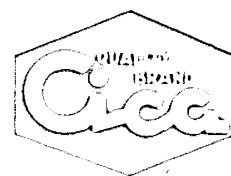


昭和五十五年一月一日発行



1980 No.1

(通巻95号)

発行者 関東化学株式会社

CHEMICAL TIMES

目 次

(通巻ページ)

新春を迎えて.....	取締役社長	野澤俊太郎.....	1662
味の化学話 (I)	静岡大学農学部教授 農学博士	水野卓.....	1663
化学発光計測の理論と応用.....	東京大学医学部講師 理学博士	大澤一爽.....	1668
—ルミノールによる過酸化水素—		藤田幸江	
尿中の薬毒物の分析 (XIII)	科学警察研究所 医学博士 法科学第一部長	丹羽口徹吉.....	1674
クラウンエーテルおよびクリプタンドの化学.....	早稲田大学理工学部教授 理学博士	多田愈.....	1676
生体空間と位置情報.....	山形大学 教授 理学博士	中沢信午.....	1679
薬学の先駆者・緒方 章(22)		根本曾代子.....	1682
~~~~~			
編集後記 .....			1684

KANTO CHEMICAL CO., INC.

ケミカルタイムス編集委員会  
編集責任者 山田 博

## 新春を迎えて

取締役社長 野澤俊太郎

謹んで新春を寿ぎ申し上げます。

我が国の経済は1973年に勃発した第1次石油ショック以来、景気回復のために、国を挙げて努力をして参りましたことは、ご賢察の通りであります。このため、政府は財政を挺子に危機突破を計り、企業は自らを減量しながらも、安定成長期に対処すべく、積極的な諸施策を講じて、暫時の安定を得たかに見えますが、なお、厳しい環境が続きつつあります。然しながら、エネルギー資源問題は一段と深刻化し、昨今、尾を引く中東の状況不安はついに、我が国とも密接な産油国イランの政変をきっかけに、イラン米国間の経済断交にまで進展し、そのあおりを受けて再び我が国ではエネルギー危機が叫ばれるに至りました。これに加えて、国内政局の動揺は深刻な財政危機と相まって、ますます80年代の困難さを予測させるものがあります。然しながら、この間において、弊社がどうやら70年代を乗りきって、堅実に業績を上げ得てこれられましたのは、一重に需要家の皆様のお引立の賜物であるものと深く感謝致し、心からお礼申し上げる次第でございます。また、弊社は我が国科学界の発展に寄与することこそ、至上の社会的使命であると認識し、試薬をはじめ、その応用にかかわる高度化学製品を供給するために、研究開発ならびに生産体制（岡山県棚原工場本年5月末完成）を充実致して参りましたが、今後も尚一層促進する所存でございます。なお、昨年は消費者の皆様への代理店、販売店を通じての迅速な奉仕を可能ならしめるべく、本社、主要出張所間のオンライン化を推進しましたが、本年も引続き整備を進める計画でございます。

国も企業も新たな対応を迫られるこの80年代を迎えるに際し、社内全員が一致協力して、おのれの使命の重さを痛感し、エネルギー、省資源ならびに生命に関する諸命題について学界、産業界をはじめ全ての需要家のご要望に対応できますよう、一層の努力を致し、日頃のご愛顧にお応えする覚悟でございます故、従来に勝るご叱声、ご鞭撻を賜りますよう切にお願い申し上げます。

最後に本ケミカルタイムスもご愛読者各位の温かいご支援により通巻95号を迎えることができました。またご多用中にもかかわらず貴重な玉稿をお寄せ下さいました諸先生方のご厚情に対しましても併せて厚くお礼申し上げます。今後もよろしくご指導、ご助言下さるようお願い致し、新春のご挨拶と致します。

賀 正  
1980

“試薬は鹿印”

# 味の化学話 (I)

## — 呈味物質の構造と味 —

静岡大学教授 農学博士 水 野 卓

目 次	ま え お き
1.	旨 い 話
2.	甘 い 話
3.	酢 ば い 話
4.	塩 か ら い 話
5.	苦 い 話
6.	渋 い 話
7.	辛 い 話
8.	えぐい話など 文 献

### まえおき

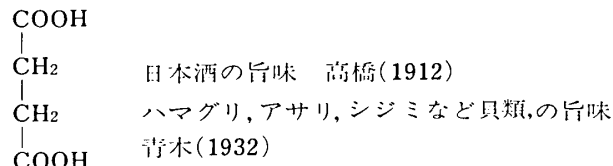
食べ物は栄養価が高いだけでは、味気ないものになってしまう。味・香・色の三拍子が揃ってはじめて食欲をそそり、おいしく食べて血となり肉となる食品としての真価を発揮するものである。とりわけ、舌で感じる味には敏感でうるさいのが日本人である。吾が国で旨味物質(旨味の本態)の化学とその生産工業が発展したのも偶然ではあるまい。

色はさておき、匂いとともには味は刺激が化学物質である点で、化学感覚といわれている。甘・酸・苦・鹹味が味覚の四原味で、これに旨味、辛味、渋味、えぐ味などが加えられ、これらの強・弱や調和が各種食品の味の特徴づけとなるのである。さらに、口から喉・鼻へ抜けて感じる香気と味の混合感覚を風味と呼んでいる。味は音楽に例えられる。ドレミファソラシド(甘酸苦鹹旨辛渋えぐ味)の原音からメロディー(味の調和)が生れ、さらにその強弱、長短、節廻しなどにより、また奏でる楽器(食品)の種類とその組合せによって、クラシック、シャンソン、ジャズ、またソプラノ、テノール、アルト、バリトン、さらに交響曲、協奏曲、奏鳴曲、歌劇、独唱、などなどそのバラエティーは限りない。これら種々の音楽(味)を解析するのは並大抵ではない。聞く人(食べる人)によって、習慣によって、各種条件によっても同じ音楽(味)でも感じ方が異なるし、音楽の良さ(おいしさ)の基準もまちまちで絶対評価は困難である。これら音楽の原点(味の種類)にもどって、ドレミファソラシド(原味)を中心に化学物質の構造と味について明らかになった味な事柄について図説表示式に纏めて見た。じっくりと眺めて味わって貰い、味の研究の味方にとり入れて戴ければ幸いである。味と化学構造との関連は経験則の域を出ていないのが現状で、一層の研究発展が望まれている。

### 1 旨 い 話

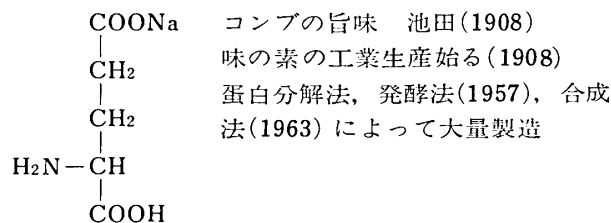
旨味三態日本の味、それに塩加減がコツ。

#### (1) コハク酸



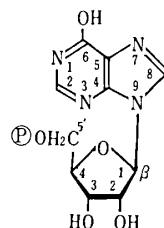
Succinic acid

#### (2) グルタミン酸 (MSG)



Monosodium L-glutamate

#### (3) イノシン酸 (5'-IMP)

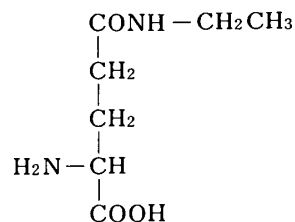


カツオブシ, 肉の旨味 (イノシン酸のヒスチジン塩) 小玉(1913)  
酵母RNA分解法, 発酵法, 発酵・合成組合せ法によって工業生産

Inosinic acid

Inosine-5'-monophosphate

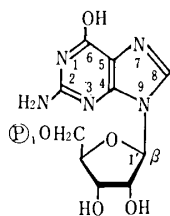
#### (4) テアニン



Theanine  
L-Glutamic acid- $\gamma$ -ethylamide

玉露茶の旨味  
酒戸(1949)  
チャの根で生成し、遮光葉に蓄積される  
チャ葉にはL-Glutamic acid- $\gamma$ -methylamide も存在し、テアニンと同程度以上の旨味がある。  
なお, Aspartic acid  $\beta$ -ethylamide は無味である。

## (5) グアニル酸(5'-GMP)



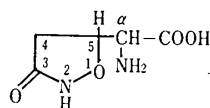
Guanylic acid

Guanine-5'-monophosphate

シイタケなどきのこ類の旨味  
中島ら (1961)

イノシン酸、グルタミン酸と  
混用。酵母RNA分解法、発酵  
法、発酵・合成組合せ法にて  
工業生産

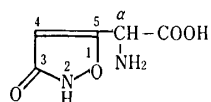
## (6) イボテン酸, トリコロミン酸



Tricholomic acid

 $\alpha$ -Amino-3-oxo-isoxazolidine-5-acetic acid

ハエトリシメジの殺蠅成分  
MSGより旨味閾値大  
竹本ら (1964)



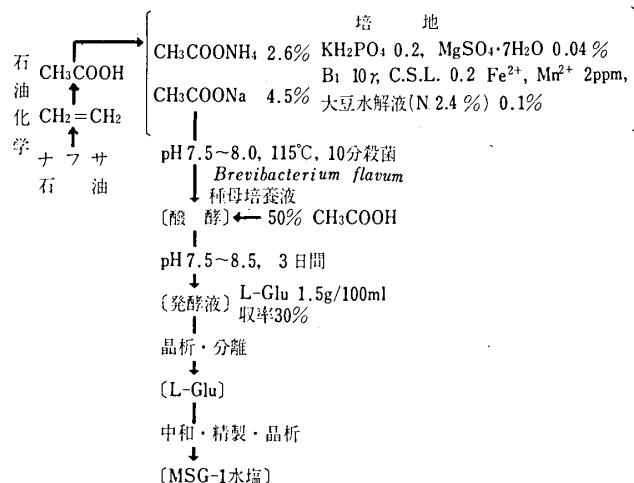
Ibotenic acid

 $\alpha$ -Amino-3-oxo-4-isoxazoline-5-acetic acid

## (7) 相乗効果 (1 + 1 → 3 ?)

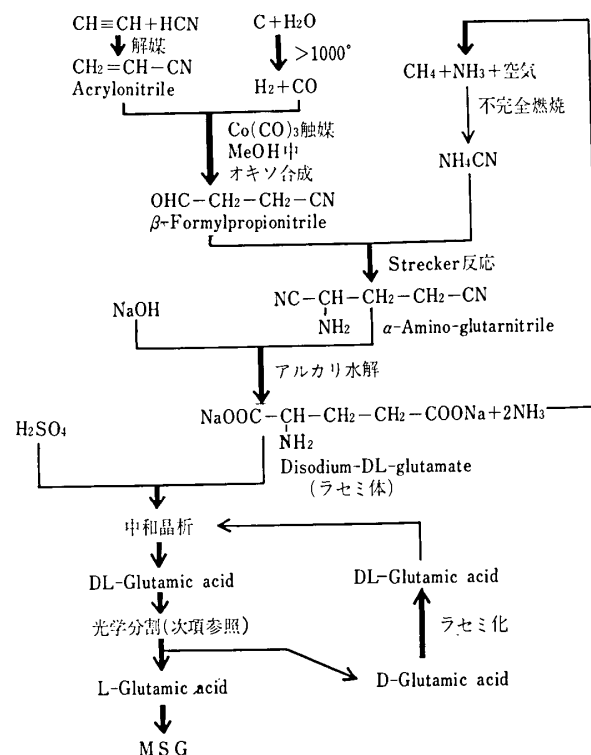
商 品	組 成			会 社
	MSG	ヌクレオチドおよびその他		
ハイミー	88%	5'-IMP 12%		味の素
いの一番	92	5'-IMP, 5'-GMP 8		
フレーブ	95	5'-IMP 2.5		ヤマサ醤油
		5'-GMP 2.5		
ミタス	88	5'-IMP, 5'-GMP 8		旭化成
		クエン酸ナトリウム 4		
ミック	88	5'-IMP 12		協和発酵

## (8) 発酵法によるMSGの製法



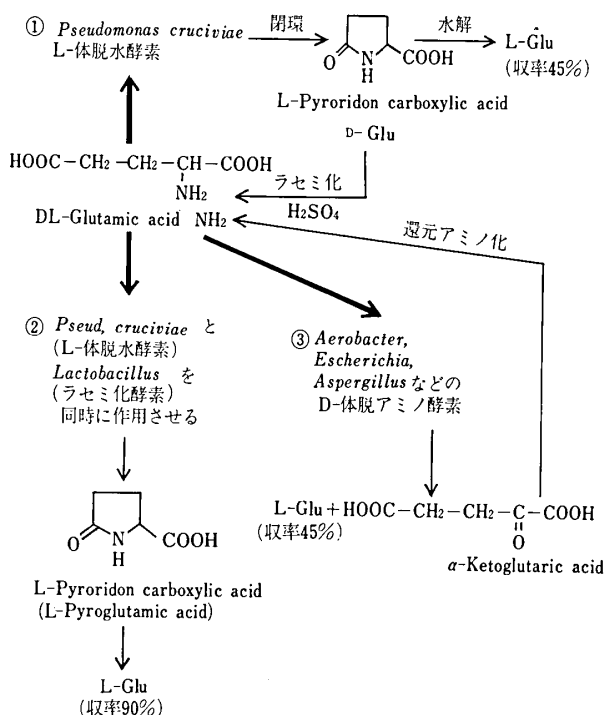
## (9) 化学合成法によるMSGの製法

1963年味の素社で工業化に成功し、10年間稼動したが  
1973年生産を中止した。

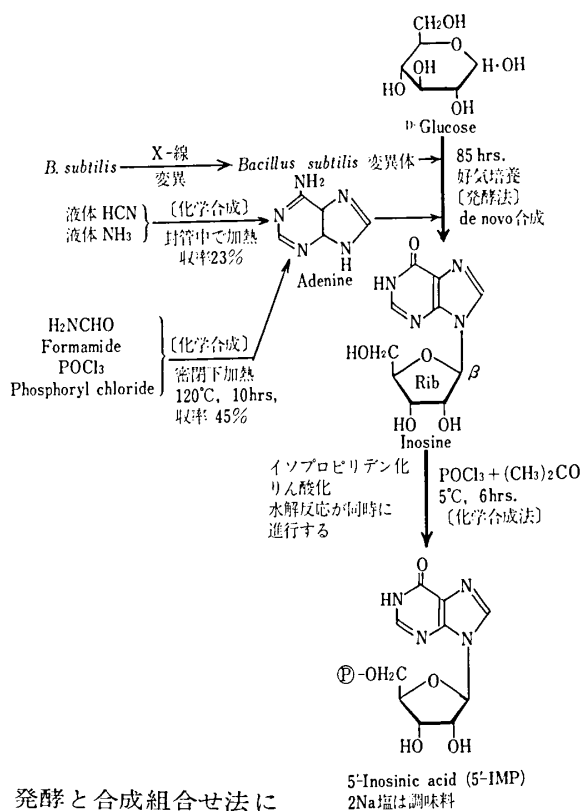


## (10) DL-グルタミン酸の光学分割法

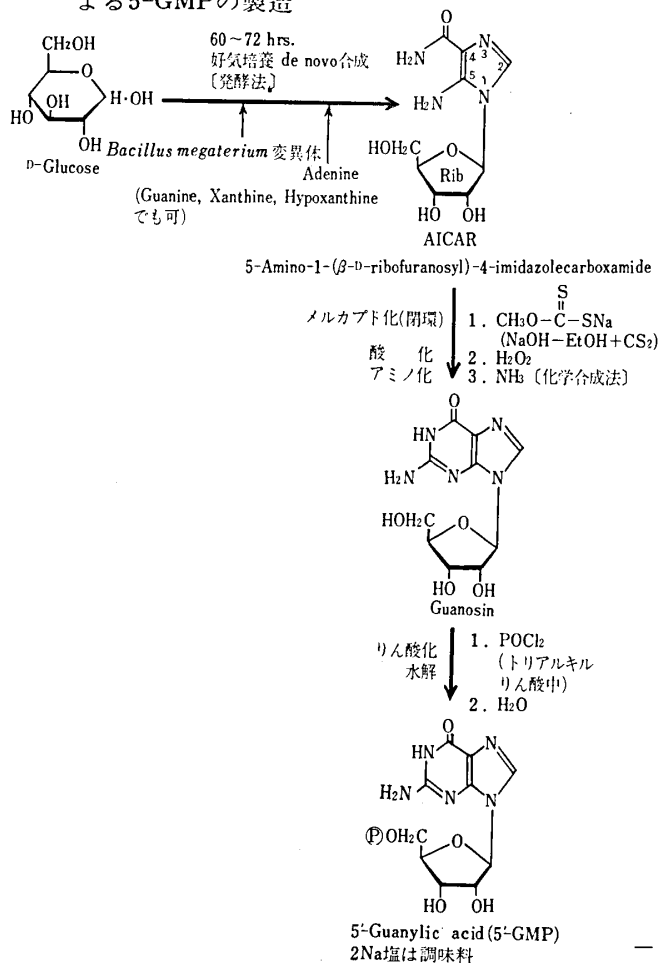
微生物の酵素の立体特異性を利用する①, ②, ③の3  
つの方法がある。



## (11) 発酵と合成組合せ法による5'-IMPの製造

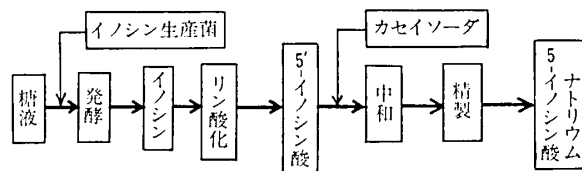


## (12) 発酵と合成組合せ法による5'-GMPの製造

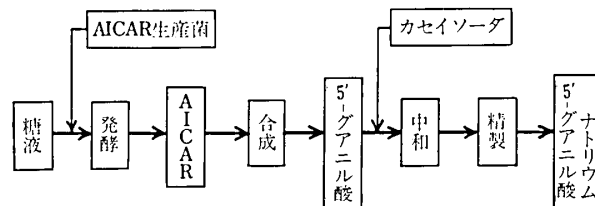


## (13) 核酸系調味料の製造工程

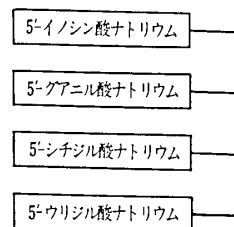
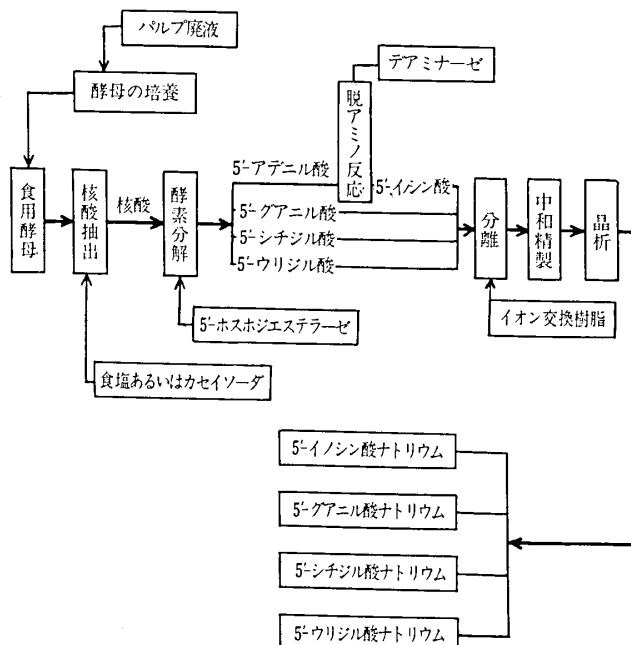
## (a) 半発酵法



## (b) 半合成法



## (c) 酵母の酸分解法



## 2. 甘い話

ハネムーン。甘い物にアがつく。甘い子に甘草。甘言魔多し。甘い酢では行かぬ。

## (1) 天然甘味物質

## (a) 糖 類

水溶性の単糖，糖アルコール，オリゴ糖は甘味を呈するが，多糖類は無味のものが多い。

糖 類 の 甘 味 度

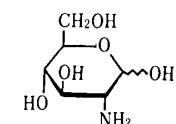
	甘味度		甘味度
単糖類		Arabinitol	1.0
D-Glucose	0.5~0.6	Erythritol	2.3
D-Glucosamine	0.4~0.5	Maltitol	0.5~0.9
D-Mannose	0.5~0.7	オリゴ糖	
D-Galactose	0.3~0.6	Sucrose	1.0
D-Fructose	1.0~1.5	Maltose	0.3~0.6
L-Sorbose	0.8	Lactose	0.16~0.53
L-Rhamnose	0.3~0.6	Raffinose	0.23
L-Arabinose	0.5	糖アノマー	
D-Xylose	0.4~0.7	{ α-D-Fructose	0.60
Invert sugar	0.8~0.9	{ β-D-Fructose	1.80
Formose*	0.7	{ α-D-Glucose	0.74
糖アルコール		{ β-D-Glucose	0.82
Sorbitol	0.48	{ α-D-Mannose	0.32
Mannitol	0.45	{ β-D-Mannose	苦味
Dulcitol	0.41	{ α-L-Rhamnose	0.1
myo-Inositol	0.5	{ β-L-Rhamnose	0.3
Xylitol	0.6		

* CH₂O から塩基の存在下で生成する単糖混合物 (C₃~C₇ 糖のDL-ラセミ体)

糖の甘味度は，D-とL-糖，α-とβ-型(還元糖)，温度，溶解度(水)などに左右されるが，蔗糖(Sucrose)はα，β-異性体存在せず(非還元糖)，温度による甘味度の変化がないので，甘味物質の標準物質である。

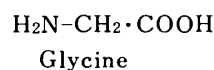
## (b) 含窒素化合物

アミノ糖，アミノ酸，酸アミド，有機塩基などに甘味を呈するものがある。

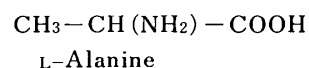


D-Glucosamine

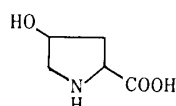
キチン，コンドロイチン，ヘパリンの水解産物  
甘味度 0.4~0.5



ゼラチン成分

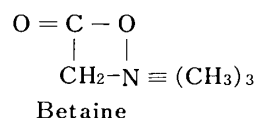


ゼラチン成分

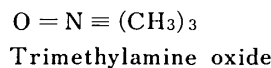


L-Hydroxy proline

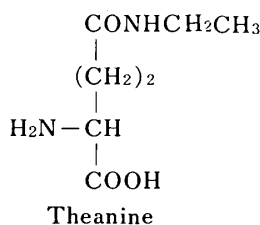
ゼラチン成分



エビ，カニ，スルメの甘味成分  
ビート中にも存在



海魚類，マイカ

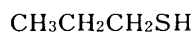
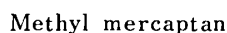


緑茶(玉露)の甘味(旨味)成分

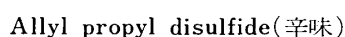
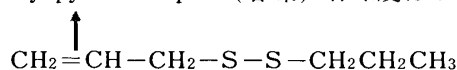
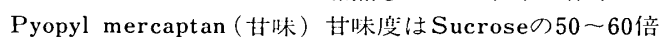
## (c) 含硫黄化合物



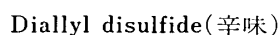
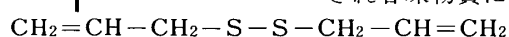
加熱した時のダイコンの甘味成分



加熱したタマネギの甘味

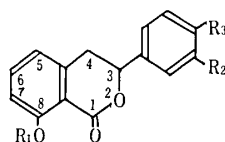


辛味成分が加熱によって還元され甘味物質になる



## (d) 環状化合物

甘茶(ユキノシタ科)の葉部に含まれる甘味成分は，イソクマリニン系に属するフィロズルチン，ヒドラングエノールおよびそれらのグルコース配糖体；フィロズルチン酸，ヒドラングエノール酸およびそれらのグルコシルエステルとグルコース配糖体；ウンベリフェロンおよびそのグルコース配糖体などの混合物である。温和な甘味を呈する。花祭(4月8日)に使用される。フィロズルチンはショ糖の200~300倍の甘味を呈する。その同属誘導体が合成され味との関係が次頁の表のように調べられている。

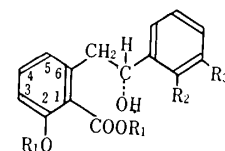


Phyllodulcin-8-β-D-glucoside (R₁=β-D-glucose, R₂=OH, R₃=OCH₃)

Hydrangenol-8-β-D-glucoside (R₁=β-D-glucose, R₂=H, R₃=OCH₃)

Phyllodulcin (R₁=H, R₂=OH, R₃=OCH₃)

Hydrangenol (R₁=R₂=H, R₃=OCH₃)



2-O- $\beta$ -D-Glucosyl-phyllodulcinic acid glucosyl ester

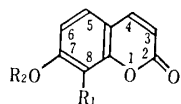
( $R_1 = \beta$ -D-glucose,  $R_2 = OH$ ,  $R_3 = OCH_3$ )

2-O- $\beta$ -D-Glucosyl-hydrangenolic acid glucosyl ester

( $R_1 = \beta$ -D-glucose,  $R_2 = H$ ,  $R_3 = OH$ )

Aglycon ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = R_3 = OCH_3$ )

Aglycon ( $R_1 = R_2 = H$ ,  $R_3 = OCH_3$ )



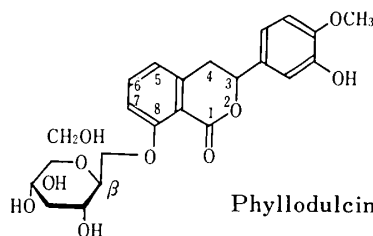
Umbelliferone-7- $\beta$ -D-glucoside

( $R_1 = H$ ,  $R_2 = \beta$ -D-glucose)

Daphnetin-8-monomethylether

( $R_1 = OCH_3$ ,  $R_2 = H$ )

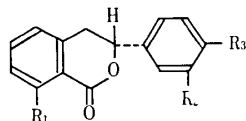
Umbelliferone ( $R_1 = R_2 = H$ )



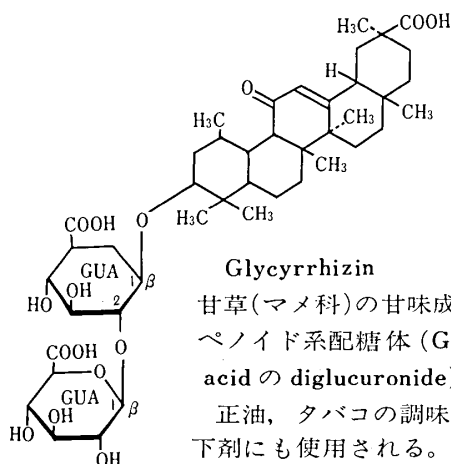
Phyllodulcin-8- $\beta$ -D-glucoside

Phyllodulcin は Sucrose の 200~300 倍の甘味。

ジヒドロイソクマリン誘導体の化学構造と味



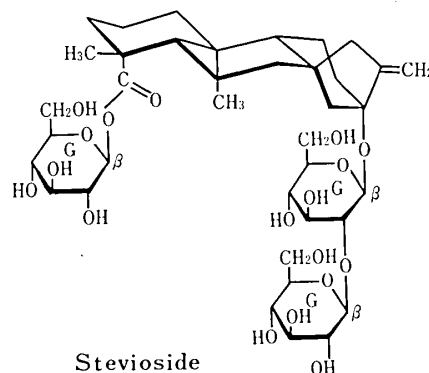
化合物	$R_1$	$R_2$	$R_3$	味
I	OH	OH	$OCH_3$	強甘味
II	OH	$OCH_3$	$OCH_3$	苦味
III	$OCH_3$	$OCH_3$	$OCH_3$	無味
IV	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	$OCH_3$	弱甘味
V	OH	OH	OH	無味
VI	OH	H	OH	無味
VII	H	OH	OH	無味
VIII	H	OH	$OCH_3$	強甘味
IX	H	$OCH_3$	OH	無味



Glycyrrhizin

甘草(マメ科)の甘味成分で、トリテペノイド系配糖体 (Glycyrrhetic acid of the diglucuronide) に属する。

正油、タバコの調味に、また祛痰薬、下剤にも使用される。



Stevioside

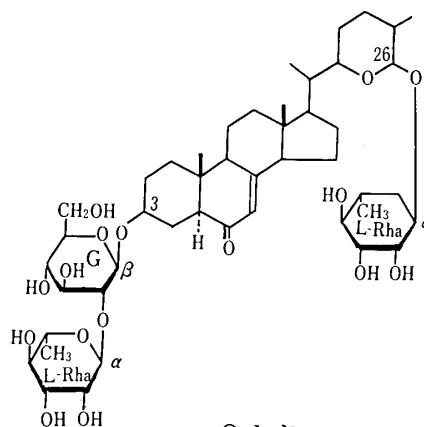
パラグアイ産のキク科 *Stevia* 属の植物葉の甘味物質 (含量 5~20%) で、sucrose の 300 倍の甘味を有する ent-Kaurene 系のジテルペン配糖体である。

これ以外の甘味成分として Rebaudioside-A, -C, -D, -E および Dulcoside-A が分離され、次表のように構造決定された。

ステビア葉中の甘味配糖体

配糖体	$R_1$	$R_2$	$R_3$
Stevioside	Glc	H	H
Rebaudioside-A	Glc	Glc	H
Rebaudioside-C (Dulcoside-B)	rha	Glc	H
Rebaudioside-D	Glc	Glc	Glc
Rebaudioside-E	Glc	H	Glc
Dulcoside-A	rha	H	H

Glc :  $\beta$ -glucosyl; rha :  $\alpha$ -rhamnosyl  
(Rebaudioside-B : artifact)



Osladin

シダ植物 *Polypodium vulgare* の地下茎の甘味物質で、新しい形のステロイド・サポニンの二重グリコシドである。含量(対乾物0.03%)少ないため商業的な甘味料とするのは困難である。

Sucrose の 3,000 倍の甘味。

(以下次号)

# 化学発光計測の理論と応用

## — ルミノールによる過酸化水素 —

東京大学医学部講師 理学博士 大澤 一 爽  
藤 田 幸 江

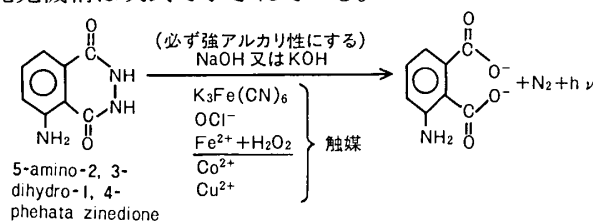
### はじめに

発光現象を応用して、微量分析を行う方法は、従来の蛍光、偏光、散乱光、施光度、濁度測定などの入射光と分光を必要とする分析法と比べて、発光エネルギーを直接検出するという点で、ユニークな存在になりつつある¹⁾。然し、Bioluminescenceのluciferin, aequalinにしても、Chemiluminescenceのluminol, lucigeninにしても、その発光現象の機構は十分に解明されていない。それにも拘らず、発光現象の応用例が数多く先行する結果になっている^{1, 6, 7)}。本文でも、発光機構を検討しながら、ルミノール+遷移金属+酵素による化学発光反応で、過酸化水素の定量を試みたのであるが、触媒である反応促進物質が多く存在して、求めようとする過酸化水素の信号が雑音に埋まってしまうという現象になった。雑音を消去したとしても、発光数値積分値—過酸化水素濃度曲線から直線性を求めると、二本以上の傾斜の異なる場合が多かった。この直線性の濃度範囲をfixできないところに、assayとしての微量分析の弱点が存在する。然し、光電子増倍管(PMT)の特性から考察すると、微弱光の光電子数計測に威力を発揮するという利点が存在する。それでは化学発光のルミノール+触媒による発光現象は、single photon eventとしてとらえているのか、multiphoton eventsか。多分、前者であろうと推定し乍ら、連続的に発生するsingle photonをどの程度正確にとらえてるかというPMT自体の特性が不明である。実際には発光反応の二相性の光子数積分波形記録が生じたことから、上の疑問を解かず、dataに波形のみを記した。Aloka luminescence Reader BLR-101を使用して、以下の記録を行ったが、同一のPMTを使用する限り、同様の波形が得られる。ルミノール発光反応の波高分布解析は別の機会に譲り、ここでは、過酸化水素から出るとされる信号を求めた。合わせて、発光波形の積分値をとる場合は、反応液の濃度を低くして、微量の試料による光子数計測を行うほうが、PMT特性から有利である。

### (1) ルミノール反応の発光機構

初めに、ルミノール反応の発光機構と、その化学反応—発光条件を調べる。

発光機構は次式で示されている^{2, 7)}



発光機構として、free radicals であるとする説²⁾と、ルミノール²⁻イオンの酸化電子による説^{3, 4, 5, 6)}があるけれども、ルミノールが活性化される全過程を一つの機構として説明するまでには至っていない。

ルミノールはアルカリ溶液中で溶解して活性化される薬品で、 $K_3Fe(CN)_6$  又は、次亜塩素酸塩によって化学発光を生ずる。

ルミノール反応を促進させる金属が入っているポルフィリン環を含有する物質(例えば、ヘムタンパク質、ヘム酵素であるカタラーゼ、ペロキシダーゼ、およびチトクロームは、テトラピロール化合物誘導体の4座配位に金属(鉄)のキレート複合体をつくっている)によっても、ルミノールは化学発光する。また $H_2O_2$ は $Fe^{2+}$ 又は $Co^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ などの重金属の存在下で上の化学反応を促進する。この化学反応式から微量分析に興味を向けると、臨床検査に応用できそう^{6, 7)}と思われる個所は随所にみられるが、そのうちの一つである触媒分子と発光の化学量論が正しいとすれば、反応最終物質として $H_2O_2$ と発生させる酵素のassayに分子レベルからアプローチできることになる。然し、 $H_2O_2$ とルミノールだけでは発光は起らず、実際に発光を起させる物質を加える必要がある。従って測定された発光数のすべてが $H_2O_2$ 由来であるというよりは、発光を起させるために入れた物質からの擬似信号又は雑音もまたその中にはいっているということになる。この雑音排除方法が、assay技術と検量線の模索につながっている。そこで次のような基礎的な実験であるルミノール発光促進物質の発光数を計測して、各々の濃度の標準曲線をかいて、検量線の直線性有効範囲を検討した。

- ルミノール+ $K_3Fe(CN)_6$
- ルミノール+ $K_3Fe(CN)_6$ + $H_2O_2$
- ルミノール+カタラーゼ
- ルミノール+カタラーゼ+ $H_2O_2$
- ルミノール+ペロキシダーゼ
- ルミノール+ペロキシダーゼ+ $H_2O_2$

先ず、これらの組み合わせの前に、発光数の最高感度、条件設定を以下のように定めた。

### ○測定方法

1) ポリエチレン製ミニバイアルに、 $K_3Fe(CN)_6$  又はカタラーゼ溶液又はペロキシダーゼ溶液と $H_2O_2$ を添加する。この時ガラス製のバイアルを用いることは不可である。ルミノール発光はガラスの吸収よりも、ポリエチレンによる散乱のために計数値を大きくする。

2) 攪拌後、Aloka luminescence Reader測光機器(発



光量により sensitivity を調節)にセットする。発光測定 waiting time 及び integrating time は各実験毎に記した。

3) マイクロ注射器でルミノール溶液をバイアル上部より注入する。

4) 発光数の積分値 record し、計数する。値はすべて sensitivity 1 に換算した。

#### ○試薬調製

ルミノール溶液: 1M  $\text{H}_3\text{BO}_3$ -KOH buffer (pH 10.5) で溶解, 希釈。ルミノールは強アルカリ性でのみ反応する。

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ :  $\text{H}_2\text{O}$  で溶解, 希釈。アルカリ性溶液に溶解すると発光反応が下がる特性あり。

$\text{H}_2\text{O}_2$ :  $\text{H}_2\text{O}$  により希釈。過マンガン酸カリ溶液滴定

$\text{H}_2\text{O}_2$ :  $\text{H}_2\text{O}$  により希釈。過マンガン酸カリ溶液滴定により力価を出した。(  $\text{H}_2\text{O}_2$  原液  $1/250 = \text{約} 0.032\text{M}$  )

カタラーゼ: 1M  $\text{H}_3\text{BO}_3$ -KOH buffer (pH 12.0) で溶解, 希釈。1 時間毎に希釈したものを使用した。カタラーゼ溶解後,  $10^{-3}\text{mg/ml}$  の濃度では, 室温約 1 時間後で, 発光数が減少する。

ペロキシダーゼ: 0.1M HEPES-tris buffer (pH 8.5) で溶解, 希釈。

グルコース溶液:  $\text{H}_2\text{O}$  により希釈。

グルコースオキシダーゼ: 0.05M 酢酸-酢酸ナトリウム buffer (pH 5.7) で溶解, 希釈。

ウリカーゼ: glycerol 50% v/v : 50mM glycine : 0.13 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  で溶解, 希釈。

尿酸: ホウ酸 buffer 0.1M (pH 9.5) で溶解, 希釈。

#### ○反応液量

三種類の溶液添加の割合を定めるため, ルミノール,  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  を次表のような割合で加えて, その発光数を測定した。

ルミノール + $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ + $\text{H}_2\text{O}_2$			発光数計測例
0.5	0.5	0.1	230,942
0.4	0.5	0.1	207,662
0.3	0.5	0.1	160,225

この実験から, ルミノール:  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 = 1:1$  の割合を定めた。なお, 濃度について, 高感度の発光計測が可能な範囲は,

$\text{H}_2\text{O}_2$  低濃度 ( $10^{-6}\text{M}$ ) + ルミノール ( $10^{-4}\text{M}$ ),

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  ( $10^{-3}\text{M}$ ) 高濃度

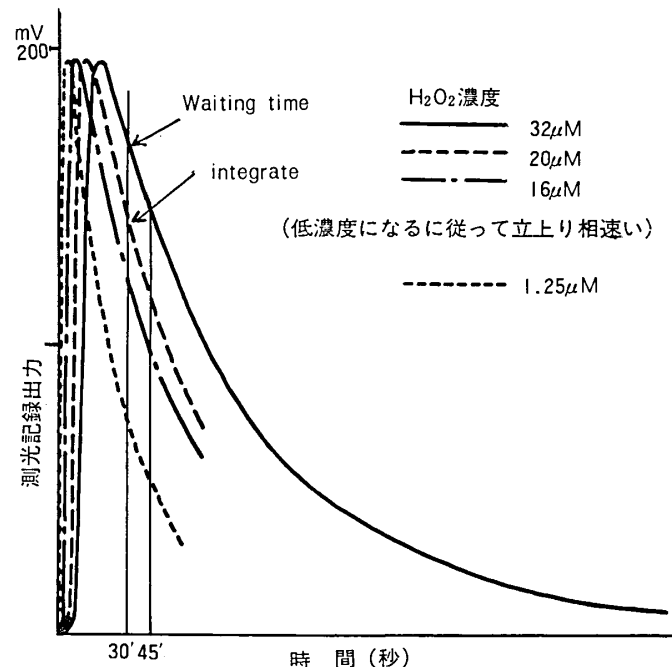
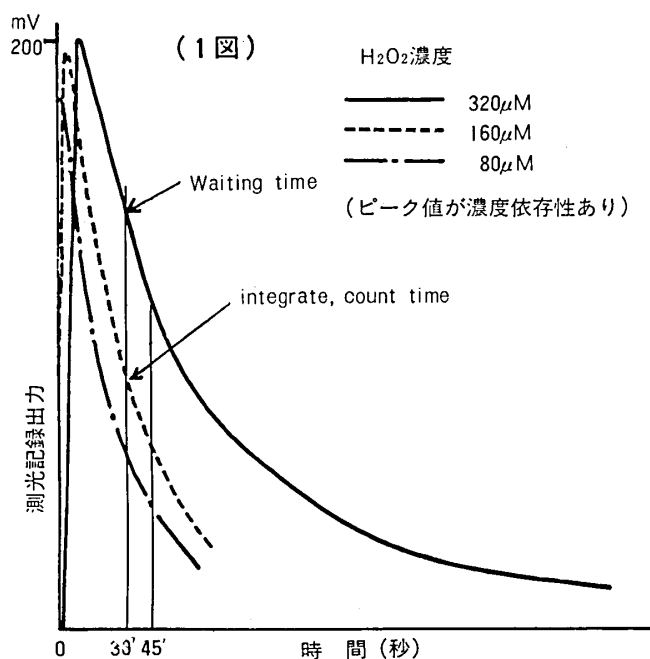
$\text{H}_2\text{O}_2$  高濃度 ( $10^{-3}\text{M}$ ) + ルミノール ( $10^{-5}\text{M}$ ),

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  ( $10^{-3}\text{M}$ ) 低濃度

という大まかな結果が出来た。然し, 次に示すように, ルミノール化学反応は, 単純な反応により単光子 ( $h\nu$ ) を出しているのではないという現象がみられた。

#### (2) 標準曲線

○ルミノール ( $5 \times 10^{-4}\text{M}$ ) 250  $\mu\text{l}$  +  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  ( $7 \times 10^{-3}\text{M}$ ) 250  $\mu\text{l}$  に対して  $\text{H}_2\text{O}_2$  を  $320\mu\text{M}$  から  $1.25\mu\text{M}$  まで濃度変化させると, 図 1 を記録した。waiting time 30 秒, count



15 秒で発光数を積分すると, 図 2 の検量曲線が得られた。図 1 から,  $\text{H}_2\text{O}_2$  濃度に依存したピークの移動が明らかに出てくる。この Dose 範囲では, 積分される部分にも正確な期待値が予測出来た。これに対して,  $\text{H}_2\text{O}_2$  を mM の高い濃度にする, 奇妙な波形が記録された。

○ルミノール ( $2.5 \times 10^{-5}\text{M}$ ), 250  $\mu\text{l}$  +  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  ( $7 \times 10^{-5}\text{M}$ ) 250  $\mu\text{l}$  に対して,  $\text{H}_2\text{O}_2$  を  $32\text{mM}$  から  $1\text{mM}$  まで濃度変化させると, 図 3 の波形記録が得られた。waiting time 0 秒, count 15 秒と, waiting time 5 分, count 15 秒の発光積分値をそれぞれ検量曲線にすると, 図 4 が得られた。

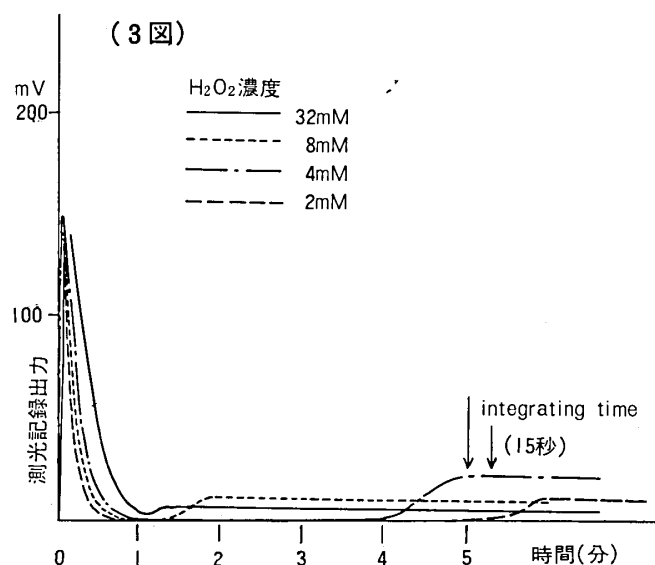
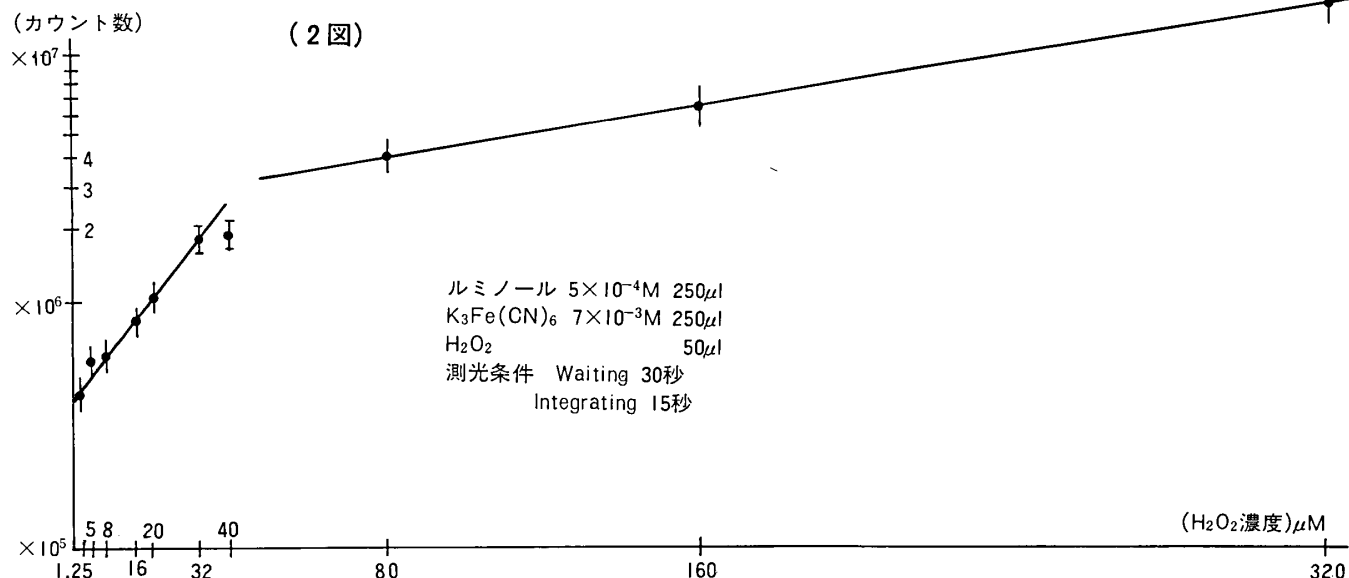
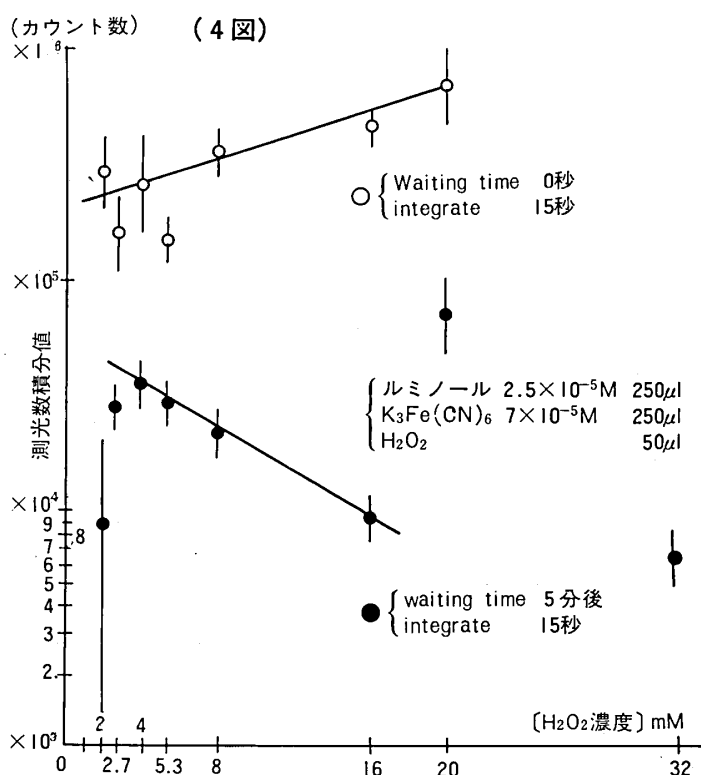
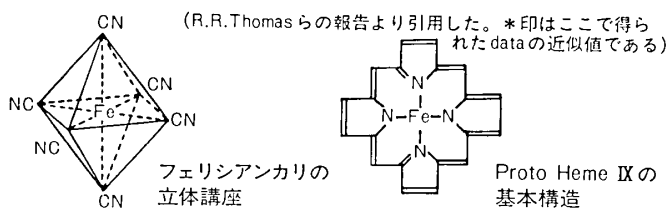


図3より、 $\text{H}_2\text{O}_2$ を高濃度にすると、波形が2相になり、初めのピークに対して、次の相は緩慢な plateau をもっていることが明らかになった。この2相性波形は、カタラーゼ添加の時にも得られたことから、ルミノール化学反応に特有な、化学発光が進行していることを示すものであろう。この2相性光子数積分波形が、ルミノールの単一光子を発生する初期反応に含まれる要素である可能性は小さいが、ルミノール発光反応の unitary を求めるために、掃引の速いオシロスコープを用いて実験中である。そこで、この2相性波形の惹起個所を推定してみると、ルミノールの化学反応による発光は  $h\nu$  が unitary で  $\lambda_{\text{max}} = 425 \text{nm}$  であるから、ルミノール1分子は触媒分子との衝突により、ある一定の energy の1光子を出している。光電子増倍管が425nm波長に極大値の収集効率近似値をもっているならば、ルミノール発光1光子をキャッチして波高分布は単相性を示すであろう。光子数積分値



が単相性にならず、2相性の擬似信号を発光させる物質を考察してみると、ルミノール反応促進物質のFe, Co, Cuの様な遷移金属から短寿命の発光を出しているか、フェリシアナイド様な触媒も発光に関係していることが推定される。これには次の様な興味ある結果がみられた。  
 ○ルミノール化学反応促進物質の鉄分子配位構造と発光数の比較。

複合体	鉄原子数/1分子	配合体構造	濃度(M)	応答測定値
フェリシアンカリ	1	—	$1 \times 10^{-7}$	5
塩化コバルト	0	—	$1 \times 10^{-7}$	2.6
硫酸鉄	1	—	$1 \times 10^{-7}$	0.03
塩素イオン	0	—	$1 \times 10^{-7}$	0.03
カタラーゼ	4	Proto Heme IX	$10^{-7}$	9490
ペロキシダーゼ*	4	"	$10^{-7}$	7850
ヘモグロビン	4	"	$10^{-7}$	6500
チトクロームC	1	Heme C	$10^{-7}$	25



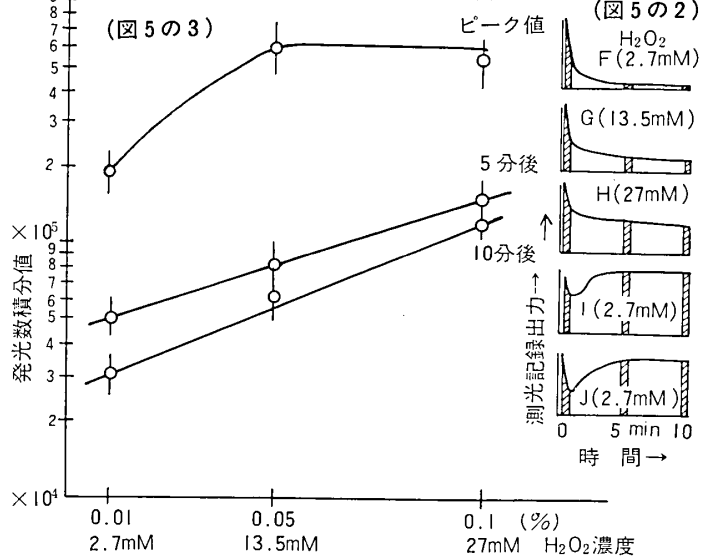
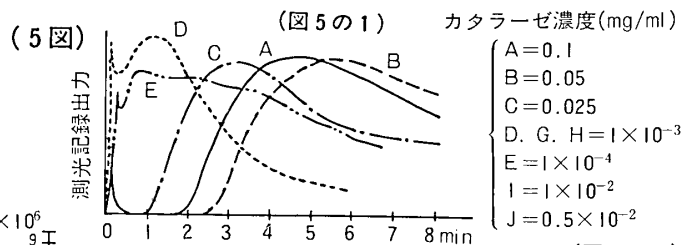
ルミノール発光反応の触媒である鉄は、硫酸鉄のような解離鉄原子からの発光応答が始んど観察されないことから、鉄イオンが解離して触媒になるのではなく、鉄原子配位をもったキレート複合体が関与していることがわかる。 $K_3Fe(CN)_6$ も、中心に $Fe^{+}$ イオンをもち、孤立電子対の陰イオン又は分子が配位して生じたWerner型錯体であり、ポリフィリン環も $Fe$ を中心にして1~6位配位座で占められる。擬似信号は、これらの配位基と関係しているだろう。

ルミノール発光反応には擬似信号が出ていることがわかったので、Dose responseには、直線性を十分に検討した上で選定する必要がある。

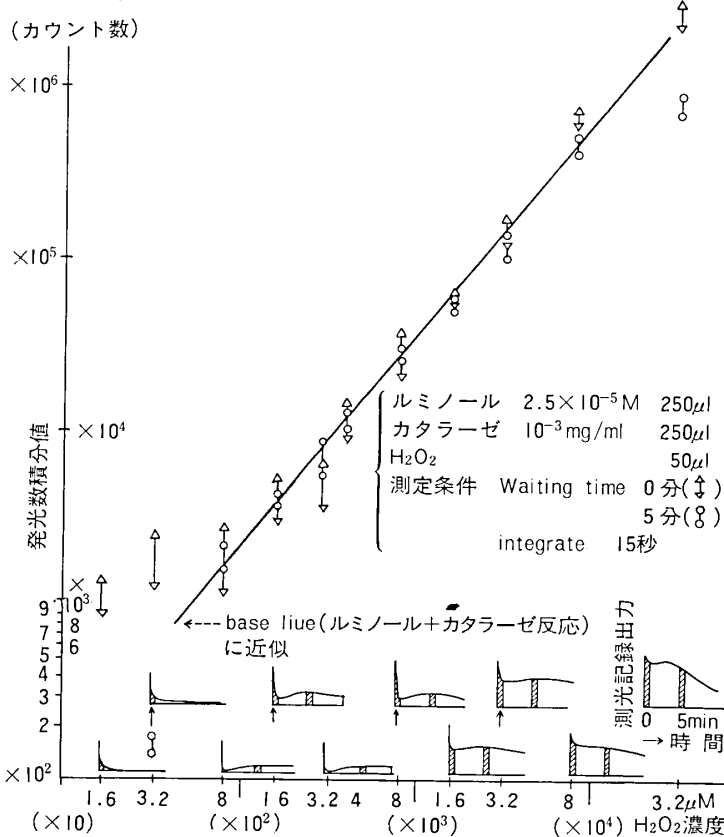
### (3) ルミノール+カタラーゼ+ $H_2O_2$ の発光反応と $H_2O_2$ のdose response curve

○ルミノール量 ( $2.5 \times 10^{-5} M$ ,  $500 \mu l$ ) と $H_2O_2$ 量 (0.05%,  $100 \mu l$ ) を一定にして、pH 10.5のbufferに溶解したカタラーゼの濃度を変化させた時の波形を記録すると、図5の1 (カタラーゼ濃度 /ml, A=0.1mg, B=0.05mg, C=0.025mg, D= $10^{-3}$ mg, E= $10^{-4}$ mg) を得た。これから、A, B, Cでピークのずれがみられるが、それらの波形の違ったパターンがD, Eでみられる。カタラーゼを用いた時の波形は、フェリシアンを用いた時の波形(図1と図3)とは明らかに異ったパターンを示した。また、カタラーゼを溶解する時、1M  $H_3BO_3$ -KOH bufferでpH 8.5, 9.5, 10.5, 12.0と変化させると、pH 12.0の時に発光数が最も高い値となった。次に、カタラーゼと $H_2O_2$ 濃度を同時に変化させた。

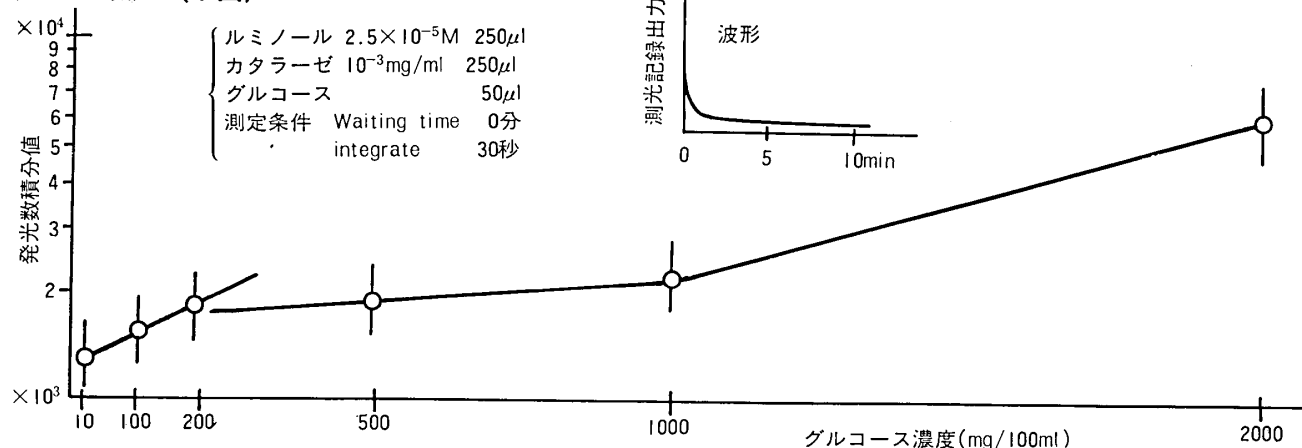
○ルミノール ( $2.5 \times 10^{-5} M$ )  $250 \mu l$  を一定にして、カタラーゼ $250 \mu l$  と $H_2O_2$   $50 \mu l$  の濃度を変化させると、図5の2 (カタラーゼ濃度 /ml, F, G, H= $10^{-3}$ mg, I= $10^{-2}$ mg, J= $0.5 \times 10^{-2}$ mg) を得た。図5の2, の波形の斜線部分(30秒間)を発光数の積分値として出すと、図5の3のような直線性が記録できた。



### (6図) ルミノール+カタラーゼ+ $H_2O_2$ による発光数標準曲線と、その $H_2O_2$ 濃度依存による波形記録



(カウント数) (7 図)



○これらの基礎実験から、ルミノール( $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) 250  $\mu\text{l}$  + カタラーゼ ( $10^{-3} \text{ mg/ml}$ ) 250  $\mu\text{l}$  を一定にして、 $\text{H}_2\text{O}_2$  50  $\mu\text{l}$  の濃度を変化させると、 $\text{H}_2\text{O}_2$  濃度の高範囲にわたり、検量曲線が得られた。図6に、 $\text{H}_2\text{O}_2$  濃度変化による波形を示し、同時に、発光数積分値による標準曲線による直線性が計測できた。以上の結論として、ルミノール発光反応による  $\text{H}_2\text{O}_2$  計測に対しては、カタラーゼのポルフィリン環による触媒が効率よく、精度も高く応用出来ることが確かめられた。

#### (4) ルミノール+カタラーゼ+ (グルコース+グルコースオキシダーゼ) の発光反応によるグルコース微量濃度の検量線

○ルミノール( $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) 250  $\mu\text{l}$  + カタラーゼ( $10^{-3} \text{ mg/ml}$ ) 250  $\mu\text{l}$  を一定にし、glucose濃度を変化させて、glucose + glucoseoxidase (GOD) から生ずる  $\text{H}_2\text{O}_2$  を計測した。 $\text{H}_2\text{O}_2$  反応に対しては、GOD (40 U/ml) 5  $\mu\text{l}$  を glucose 溶液 (0 ~ 2000 mg/100 ml) に加えて、40°C で 5 分 incubate して生じた  $\text{H}_2\text{O}_2$  を使用した。

結果の一部を図7に示した。glucose + GOD から生じた  $\text{H}_2\text{O}_2$  をルミノール+カタラーゼに加えると、図7の様な光子数波形となった。波形の rising time と高さは大きい、直ちに傾斜して減少する波形をもち、図6で期待されたような、積分値を増加させる波形にはならなかった。波形に減少がみられる原因は、 $\text{H}_2\text{O}_2$  によるものと考えて、次項で、glucose 量と GOD 量を変化させて、 $\text{H}_2\text{O}_2$  生産能力及び発光数値積分値を調べた。

○ルミノール+カタラーゼに対する、 $\text{H}_2\text{O}_2$  反応による glucose 濃度変化—発光数積分値をプロットすると、図7のグラフが得られた。このグラフでは3つ以上の直線性が存在する。従って、標準曲線の有効な直線性を求めるには、測光記録出力の波形を調べて、測定条件の waiting time と integrate time を選定しなければならない。

#### (5) グルコース+グルコースオキシダーゼ反応より出る $\text{H}_2\text{O}_2$ の定量

○ルミノール ( $2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) 250  $\mu\text{l}$  +  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  ( $7 \times 10^{-3}$

M) 250  $\mu\text{l}$  を一定にして、 $\text{H}_2\text{O}_2$  を生ずる glucose と GOD の濃度を変化させた。40 U/ml の GOD, 0, 1, 5, 50, 100  $\mu\text{l}$  に対して、glucose 濃度を 0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 mg/dl になるように調製して、35°C ~ 40°C で incubation 5 ~ 15 分の組み合わせをつくり、その product の 50  $\mu\text{l}$  を  $\text{H}_2\text{O}_2$  として加えた。波形から判断して、測定条件は、waiting time 15 秒、integrate time 15 秒を定めた、薬品は Sigma 社製を用いた。

その発光数積分値は  $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$  を得たが、上記の GOD 量変化では、顕著な差が示せなかった。僅かに、GOD 量を増加していくと、低濃度の glucose で count 値の増加がみられた。逆に、GOD を 50  $\mu\text{l}$  以上にすると、glucose を高濃度にした時、count の減少があった。

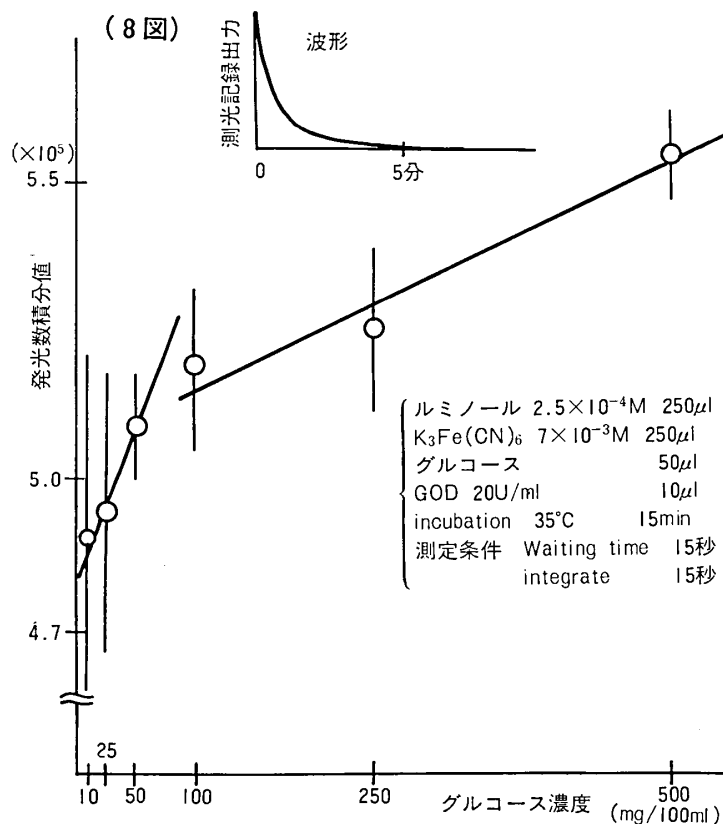
○次に、glucose + GOD 反応の停止液として、1 M  $\text{H}_3\text{BO}_3$ -KOH buffer (pH 12.0) を 1 ml 用いた。incubation 後停止液を加える操作を付けたして、上記と同様の組み合わせを試みたが、発光数積分値に顕著な差はあらわれなかった。

○続いて、glucose + GOD 反応の incubation time を 0, 5, 10, 15, 20 分として、同様の実験を行なった。incubation time に依存して、生ずる  $\text{H}_2\text{O}_2$  量が変わるのは当然であるが、glucose, GOD 濃度を大きく変化させても、広範囲にわたる直線性は出現しなかった。

○これらの結果から、GOD (20 U/ml) 10  $\mu\text{l}$  + glucose (濃度変化, 0 ~ 500 mg/ml), incubation 35°C, 15 分による  $\text{H}_2\text{O}_2$  の測光積分値—glucose 濃度変化のグラフを図8に示した。正の相関はみられるものの、直線性は2本に分かれている。waiting time 0 で count したとしても、相対的に値は大きくなるが、雑音にあたるバラつき傾向も増大した。

#### (6) ルミノール+ペロキシダーゼ+ $\text{H}_2\text{O}_2$

ルミノール (0.01 M) 0.2 ml + ペロキシダーゼ (0.02 U/ml) 0.5 ml を一定にして、 $\text{H}_2\text{O}_2$  0.2 ml の濃度を変化させると、発光数積分値との相関には、やはり、2本の直線が出現した(図9)。この場合にも、ルミノール+ペロキシダーゼによる発光反応の count が出て、求めようとする



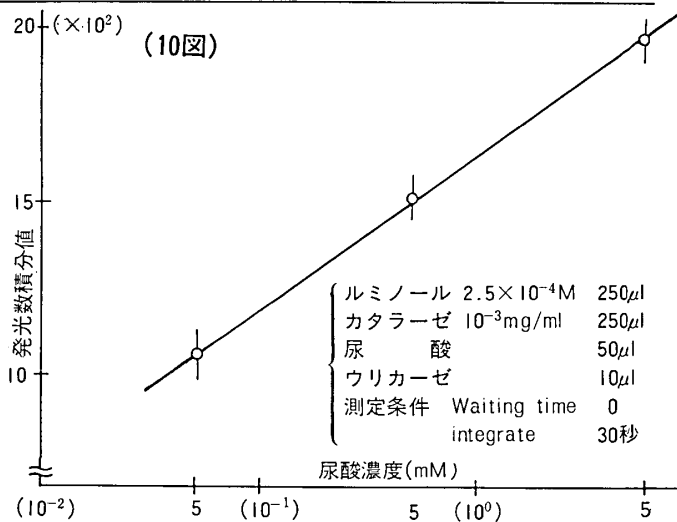
$\text{H}_2\text{O}_2$  の情報が打ち消されるために、 $\text{H}_2\text{O}_2$  濃度を高めたという、信号/雑音比の問題は消えていない。

#### (7) ルミノール+カタラーゼ+(尿酸+ウリカーゼ)の発光反応

ルミノール( $2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ )250  $\mu\text{l}$ +カタラーゼ( $10^{-3} \text{ mg/ml}$  250  $\mu\text{l}$ )を一定にして、尿酸 1 ml+ウリカーゼ10  $\mu\text{l}$  から生ずる  $\text{H}_2\text{O}_2$  を変化させた時、測光積分値は10図になった。この場合には、直線性が明確に出現した。

#### (8) 結 論

ルミノール発光反応を応用して、 $\text{H}_2\text{O}_2$  の定性定量実験を行った。その結果、ルミノールと触媒の選択により、高頻度の発光数が計測できた。然し、ルミノールと  $\text{H}_2\text{O}_2$  だけでは発光しないので、他の触媒によってルミノール発光を起こさせる、いわば、雑音の中から、 $\text{H}_2\text{O}_2$  の情報を取り出す工夫が必要であった。発光数- $\text{H}_2\text{O}_2$  濃度曲線も直線性は限定された範囲で、その有効性が認められ

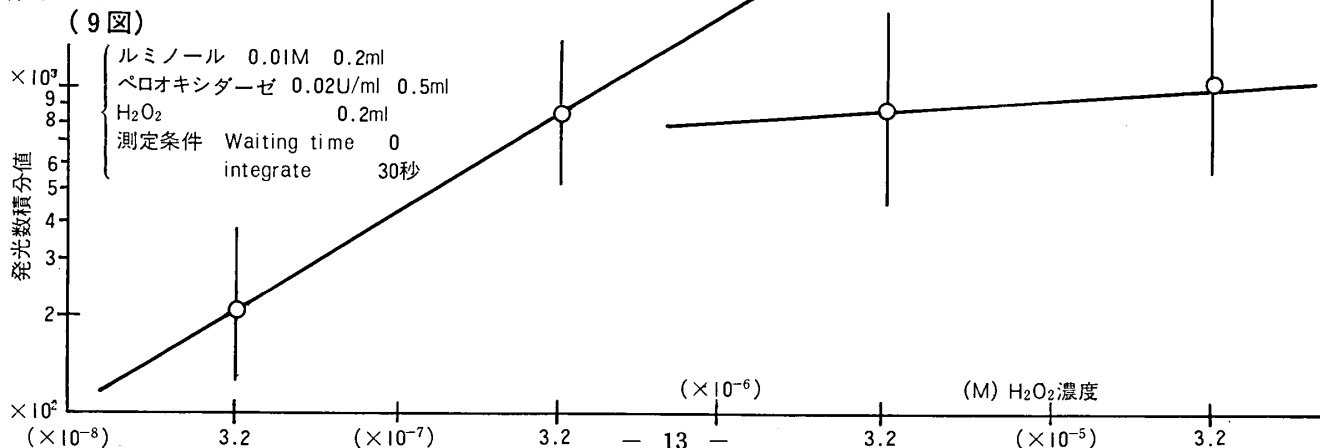


たに過ぎなかった。ルミノール発光機構が解明されていないので、微量分析への応用には、発光波形の十分な検討が必要である。但しPMTの高感度特性が優先されるので、ここで得られた低濃度試薬、微量微弱光計測の結果に発光反応は進展していくであろう。

今回の実験ではルミノールを溶解した後、直ちに使用したものをdataとしたが、ルミノールのagingという問題点を考えるならば、現在行った実験と同じ方法で溶解後数十日経たぬルミノール液の経日実験をしたものを比較しなければならない。ルミノールagingと発光反応は信号-雑音比に関係してくる結果を得たが、それがルミノール試薬に問題があるのか、溶液に問題があるのか不明な点が多すぎるので、ここでは取り上げなかった。臨床科学応用への基礎的解釈として解明しなくてはならない点が多く存在しているが、単一光電子パルス計測という方法は次代の寵児になろうとしている。

#### 文 献

- 1) 大沢, 星, 化学と生物, **16**, 402(1978).
- 2) White, E.H. and Raswell, D.F. Accounts of Chemical Research, **55**, (1970).
- 3) Shevlin, P.O. and Neufeld, H.A. J.Org. Chem. **35**, 2180(1970).
- 4) Seitz, W.R.J. Phys. Chem. **79**, 104(1975).
- 5) Burds, T.G. and Seitz, W.R. Anal. Chem. **47**, 1642(1975).
- 6) Gorus, F. and Schram, F. Clin. Chem., **25**, 512(1979).
- 7) Methods in Enzymology **57** (1978).



## 尿中の薬毒物の分析(XIII)

科学警察研究所 法科学第一部長 医学博士 丹羽口徹吉

### (D) 分析法

#### a) 尿中メタンフェタミンのスクリーニングテスト

前述したように日本では覚せい剤、メタンフェタミンの乱用が増加の一途をたどっている現状である。これに伴って関係機関ではメタンフェタミン服用者発見の一手段として、尿中に排泄される薬物の検査を行っているが、その数も莫大なものとなっている。

人におけるメタンフェタミン服用時の尿中排泄物としては未変化体が最も多く、次いで代謝物のp-ヒドロキシメタンフェタミン、アンフェタミンなどであることはすでに述べた¹⁵⁷⁾。従って尿についてのスクリーニングテストは、メタンフェタミンを対象として検査を行うことが望ましい。

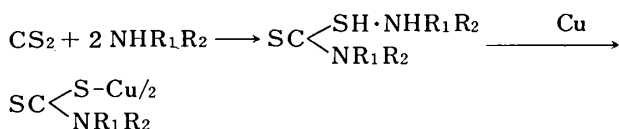
#### a-1) シモン反応による呈色反応

シモン試薬はメタンフェタミンのような第2級アミンに特異的に反応する試薬である。試料に20%炭酸ナトリウム溶液1滴、50%アセトアルデヒド・エタノール溶液1滴を加えて混和したのち、1%ニトロプルシッドナトリウム溶液1滴を加えると、2級アミンが存在すればあざやかな青～青藍色を呈する。この方法によるメタンフェタミンの検出感度は5μgである。

この呈色反応を尿中に排泄されるメタンフェタミンのスクリーニングテストに利用するよう検討された¹⁵⁸⁾。即ち、検体の尿2～3mlをとり、アンモニア水でpH9とし、予め処理したAmberlite XAD-2約5mgを加えて10分間放置し、ろ過して得られたXAD-2に直接試薬を滴加して呈色を観察する。XAD-2の前処理としては、樹脂に約5倍量のメタノールを加えて2時間攪拌、メタノールを除去、この操作を繰返したのち10倍量の水で3回洗浄する操作を行う。

#### a-2) ジチオカルバメート反応による呈色

脂肪酸1級および2級アミンは、二硫化炭素と反応してジチオカルバメートを形成し、更にこのものは銅イオンと水に不溶性で、ベンゼン、クロロホルム、エーテルなどに可溶性の黄褐色錯体を形成することが知られている¹⁵⁹⁾。



この反応を尿のスクリーニングテストに応用し、得られた銅錯体をベンゼンで抽出し、その有機溶媒の色を観察する方法が検討されている¹⁶⁰⁾。

#### a-3) ジチオカルバメートのUV吸収測定

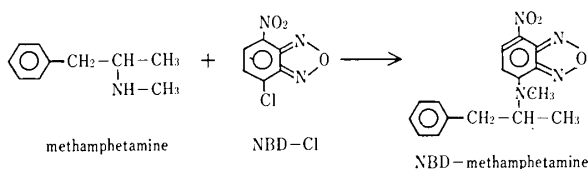
前項と同様、覚せい剤のジチオカルバメートを作り、このもののUV吸収を測定する方法である。覚せい剤お

よびその関連化合物は、一般にそれ自体UV吸収の強度は弱く、mg/mlレベル濃度であるが、ジチオカルバメートとすることによりμg/mlレベルで測定が可能となる。

約10mlの尿を1N水酸化ナトリウム溶液でpH12とし、50mlのエーテルを加えて振りまぜ、エーテル層を飽和食塩水で洗浄したのち、4mlの0.03N硫酸を加えて振りまぜ、覚せい剤を抽出する。この硫酸層を0.25N水酸化ナトリウム溶液で中性とし、1%四ほう酸ナトリウム(Na₂B₄O₇)溶液を加えてアルカリ性とし、0.2mlの10%二硫化炭素・エタノール溶液を加え、60°で7分間加温したのち、放冷してUV吸収を測定する。メタンフェタミンが存在すれば258nmに極大吸収が表われる¹⁶¹⁾。

#### a-4) 7-クロロ-4-ニトロベンゾ-2-オクソ-1,3-ジアゾール(NBD-Cl)試薬による蛍光反応

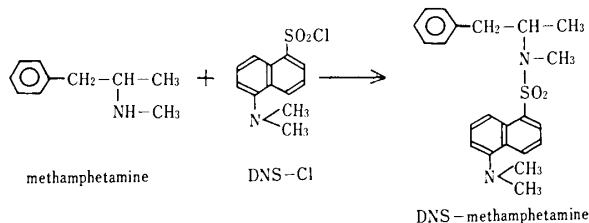
この試薬はアミノ酸と結合して蛍光を発すること¹⁶²⁾から、広くアミノ酸、カルバメートなどの確認に使用されているものである¹⁶³⁻¹⁶⁵⁾。この試薬を尿中メタンフェタミンのスクリーニングに用いる方法についても検討されている^{166, 167)}。



即ち、尿を炭酸水素ナトリウムアルカリ性とし、0.5% NBD-Clのメチルイソブチルケトン(MIBK)溶液を加えて80°で30分間反応させ、MIBK層の一部をとり薄層クロマトグラフィーを行う方法である。この場合、展開溶媒としては、メタノール-四塩化炭素(1:20, v/v)、ペンタン-エチルエーテル(1:1, v/v)、n-ヘキサン-MIBK(1:1, v/v)などが用いられている。

#### a-5) 1-ジメチルアミノ-5-ナフタレンスルホンクロライド(DNS-Cl)試薬による蛍光反応

この試薬もアミノ酸やペプチドの蛍光試薬として開発され¹⁶⁸⁾非常に広い分野で利用されている。この試薬もメタンフェタミン、アンフェタミンと結合し、強い蛍光を与えるので、尿中に排泄される覚せい剤をDNS誘導体とし、このものについて薄層クロマトグラフィー、UV、IR吸収、蛍光スペクトル測定、質量分析などを行って分析する方法が検討されている¹⁶⁹⁾。



## a-6) イムノアッセイ

試薬を用いるスクリーニングテストにかわって免疫学的方法が検討されている。抗原としては、メタンフェタミンからN-(4-アミノブチル)メタンフェタミンを合成し、カーボジイミド法によって牛血清アルブミン(BSA)と結合させたもの¹⁷⁰⁾や、N-カルボキシメチルメタンフェタミンあるいはN-カルボキシプロピルメタンフェタミンとを、ミックスド・アンハイドライド法で結合させたもの¹⁷¹⁾を用い、それぞれ家兎に免疫して抗血清を得ている。アッセイの方法としては、³H標識メタンフェタミンや、¹²⁵I標識メタンフェタミンを用いたラジオイムノアッセイや、^{172, 173)}前述したDNS-Clで蛍光標識したN-(3-ダンシルアミノプロピル)メタンフェタミンを用いた蛍光イムノアッセイ¹⁷²⁾が検討されている。また、特別の装置、機器を用い不得でい得る極めて実務的な方法として、感作赤血球¹⁷⁴⁾を使用する血球凝集阻止反応を利用したアッセイが検討された。¹⁷⁵⁾即ち、検体尿を10倍に希釈し、その20 $\mu$ lをU型マイクロタイタープレートの穴にとり、りん酸緩衝食塩水(pH 7.2)、1%正常家兎血清、希釈抗血清各20 $\mu$ lを加えて混合し、30分間放置後、グルタルアルデヒド法¹⁷⁴⁾によって作製した感作赤血球浮遊液20 $\mu$ lを加えて混合し、更に放置して1~2時間後に凝集の状態を観察する方法である。

ここで3種の抗原から得られた抗血清の特異性はいずれもほぼ同程度であって、他の関連化合物例えばアンフェタミン、p-ヒドロキシメタンフェタミン、エフェドリン、ノルエフェドリン、p-ヒドロキシエフェドリンなどに対する交叉反応は弱く、特にp-ヒドロキシ体の化合物にはほとんど交叉反応を示さなかった。また感度の点でも、3種の抗血清は同程度で、50ng/ml以上のメタンフェタミンが存在すれば赤血球凝集阻止を明らかに認めることができた。¹⁷⁵⁾

その他、検体の尿について直接スクリーニングテストを行う方法について種々検討されているが、いずれにせよこれらの方法だけで尿中の薬物やその代謝物を確認することはできない。従って次にスクリーニングテストの検出感度を考慮して陽性あるいは陽性の疑いある尿については、有機溶媒による抽出などを行って目的物を分離して種々の分析法を試みる必要がある。

## b) 尿からメタンフェタミンの抽出

一般には尿を炭酸ナトリウムまたはアンモニアなどでアルカリ性とし、有機溶媒で抽出して薬物を得る方法がとられている。この際、未変化体のメタンフェタミンおよび代謝物のアンフェタミンや極性の高いp-ヒドロキシメタンフェタミンなどを効率よく抽出するには、クロロホルム-イソプロパノール(3:1, v/v)が用いられている。¹⁵⁷⁾ またp-ヒドロキシ体は抱合体となって排泄されるものもあるので、有機溶媒で抽出後の尿について、そのpHを4~5に調整し、 $\beta$ -グルクロニダーゼを加えてインキュベートするか、または2N程度の塩酸溶液として加熱、加水分解したのち、同様に抽出して分析のための試料を得る。

この有機溶媒を用いた振とう抽出にかわり、新しく作られた四ふつ化エチレン樹脂製の撥水性膜を用いて短時間に効率よく尿中薬物を抽出する方法が検討されてい

る。¹⁷⁶⁾

その他、Amberlite-XAD-2を用いる方法が報告されている。¹⁷⁷⁻¹⁸⁰⁾ 検体の尿25mlを1.1gのXAD-2カラムに注加し、15mlのクロロホルム-イソプロパノール(3:1, v/v)で溶出、有機溶媒層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で振りまぜて洗浄したのち、溶媒を除去して高回収率で目的物を単離している。

また最近開発されたExtrelut(E. Merck製)を用いて好結果を得た例が報されている。^{181, 182)} 尿をExtrelutのカラムに注加し、エーテルで溶出すると、尿中のメタンフェタミンおよびその関連化合物はいずれも85~100%の回収率で分離されている。

## 文 献

- 157) 丹羽口：本誌，**89**，1555(1978)。
- 158) 鈴木，山川：未発表
- 159) F. Feigl：Spot Tests in Organic Analysis, Maruzen, Tokyo, p.270, 475(1961)。
- 160) 松岡，三井，山本：衛生化学，**25**，127(1979)。
- 161) H.M. Stevens：J. Forensic Sci. Soc., **13**，119(1973)。
- 162) P.B. Ghosh, M.W. Whitehouse：Biochem. J., **108**，155(1968)。
- 163) J.F. Lawrence, R.W. Frei：Anal. Chem., **44**，2046(1972)。
- 164) H.J. Klimish, L. Stadler：J. Chromatogr., **90**，141(1974)。
- 165) F. Van Hoof, A. Heyndrick：Anal. Chem., **46**，286(1974)。
- 166) T.J. Hopen, R.C. Bringer, H.G. Sadler, R.L. Smith：J. Forensic Sci., **21**，842(1976)。
- 167) 宮内：科警研報告，**32**，88(1979)。
- 168) B.S. Hartley, V. Massy：Biochem. Acta, **21**，28(1956)。
- 169) 中原，丹羽口，三井：科警研報告，**26**，12(1973)。
- 170) L.T. Cheng, S.Y. Kim, A. Cheng, A. Castro：FEBBS Letters, **36**，339(1973)。
- 171) S. Inayama, Y. Tokunaga, E. Hosoya, T. Nakadate, T. Niwaguchi：Chem. Pharm. Bull., **25**，838(1977)。
- 172) S. Inayama, Y. Tokunaga, E. Hosoya, T. Nakadate, T. Niwaguchi：Chem. Pharm. Bull., **25**，840(1977)。
- 173) 神田，井上，岸，丹羽瀬，丹羽口：科警研報告，**31**，158(1978)。
- 174) S. Avrames, B. Taudou, S. Chuilon：Immunochemistry, **6**，67(1969)。
- 175) T. Niwaguchi, T. Inoue, T. Kishi, Y. Kanda, T. Niwase, T. Nakadate, S. Inayama：J. Forensic Sci., **24**，319(1979)。
- 176) 田村，丹羽口，丹羽瀬，及川，磯野，角田，中原，井上，神田，岸，坂井，中館：科警研報告，**30**，194(1977)。
- 177) S.J. Mulé, M.L. Bastos, D. Jukofsky, E. Saffer：J. Chromatogr., **63**，289(1971)。
- 178) S.J. Mulé：J. Chromatogr. Sci., **10**，275(1972)。
- 179) F.T. Delbeke, M. Debackere：J. Chromatogr., **133**，214(1977)。
- 180) F.T. Delbeke, M. Debackere：J. Chromatogr., **136**，385(1977)。
- 181) J. Beiter, R. Helger, H. Lang：Forensic Sci., **7**，131(1976)。
- 182) F.T. Delbeke, M. Debackere：J. Chromatogr., **161**，360(1978)。

## クラウンエーテルおよび クリプタンドの化学 (III)

早稲田大学教授 理学博士 多 田 愈

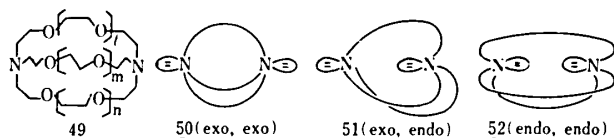
### 4) クラウン化合物のイオン選択性

クラウンエーテル類が鎖状ポリエーテルと異り、金属イオンと錯体形成をし易いことは、主としてエントロピー項の寄与によると思われる。また金属イオンの選択性に関しては、クラウンエーテルの内孔とイオン半径、電荷数(クーロン相互作用の寄与が大きいので電荷数の多い方が有利)、Soft-Hard 酸塩基¹⁾の組合せ等によって決まる²⁾。一方選択性そのものはもちろん自由エネルギー( $\Delta G$ )によって決まるが、内容的にはエンタルピー( $\Delta H$ )支配の場合も、エントロピー( $T\Delta S$ )支配の場合もある様である。

いま Soft-Hard 酸塩基説に注目するとエーテル酸素は Hard でありアルカリイオンも Hard で酸である。一方 N や S は O に比べて Soft な塩基であり、クラウンエーテルの酸素をこれ等の元素で置換えた化合物はそのイオン親和性や選択性に变化が現われるであろう。

### 5) 双環性クリプタンド³⁾

Lehn 等はクラウンエーテルの酸素を 2 個チッ素で置換し、さらにポリエーテルで架橋した化合物 49 を合成した。この化合物の特徴はまずイオンと相互作用する対電子が Soft な性質を帯びたこと、それから双環性となったためさらに配位座が増し、これに取込まれた金属イオンはクラウンエーテル中の金属イオンに比べてはるかに“隠蔽”された状態になることである。そこで Lehn はこ



の様な化合物群をクリプタンド (Cryptand, ギリシャ語で隠すの意) と名づけその錯体をクリプテート (Cryptate) とした。上にチッ素原子上の対電子がイオンと相互作用すると述べたが、この相互作用はクラウンエーテルの場合主としてクーロン力によったのに対し、かなり配位結合性を帯びたものであろう。クリプタンドには 50, 51, 52 の 3 つのコンホメーションが存在し、このうち金属イオンを有効に取り込むことが出来るのは 52 の endo-endo 型であることは明らかである。実際結晶解析されたクリプテートの構造は総じてこの型のコンホメーションをしている。これらクリプタンド類の錯生成定数を表 5 に示す。

クリプテートから金属イオンが抜け出す速さは、クラ

表 5 クリプタンド〔 $l, m, n$ 〕錯生成定数  
( $\log K_{ass}$ , 水中 25°C)

クリプタンド	内孔半径 (Å)	Li ⁺	Na ⁺	K ⁺	Rb ⁺	Cs ⁺	Mb ²⁺	Cu ²⁺	Sn ²⁺	Ba ²⁺
(2,1,1)	0.8	5.5	6.1	2.3	1.9	<2.0	2.5	2.5	<2.0	<2.0
(2,2,1)	1.1	2.5	5.4	4.0	2.6	<2.0	<2.0	7.0	7.4	6.3
(2,2,2)	1.4	<2.0	3.9	5.4	4.4	<2.0	<2.0	4.4	8.0	9.5
(3,2,2)	1.8	<2.0	1.7	2.2	2.0	<2.0	<2.0	2.0	3.4	6.0
(3,3,3)	2.4	<2.0	<2.0	<2.0	<0.5	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0

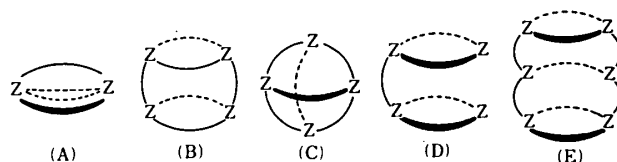
ウンエーテル錯体からの金属イオン脱出速度に比しはるかに遅く、そのために生成定数が大きくなることが考えられるし、内孔の大きさとイオンの大きさとの相関も表から分るであろう。

### 6) クリプテートの化学的性質

クリプタンド類の特徴は遷移金属イオンに大きな親和性を示すことである。これはクリプタンドの配位能から考えて当然のことである。この際クリプタンドの内孔の大きさはかなり重要で、例えば  $\text{Co}^{2+}$  の錯体化に際して〔2,2,2〕では余り有効でないが、〔2,2,1〕錯体は生成し易い⁴⁾。有機化合物の衣を着た様な構造をしているクリプテートカチオンは当然乍らカウンターイオンとのイオン対を作り難くなっており、クラウンエーテルよりもはるかにアニオンを裸にする作用がある。またカチオンはクリプタンドに取込まれて極性溶媒やアニオンの影響を受け難くなっており、〔 $\text{K}^+ \cdots 2.22$ 〕超重アルカリイオンのように振舞う。Dye 等はクリプタンドの強い配位能を利用して  $\text{Na}^+$  の状態を作り出している⁵⁾ すなわち  $2\text{Na} + [2.2.2] \rightarrow [\text{Na}-2.2.2]^+ \cdot \text{Na}^-$  で生成する錯体を金色の結晶として取出し、結晶解析並びに  $^{23}\text{Na}$  の核磁気共鳴スペクトルを測定している。また  $t\text{-AmOK}$  の塩基性は〔2.2.2.〕クリプタンドの存在下  $\text{pK}_a = 37$  にも達し、その塩基性が非常に強くなっていることを示している⁶⁾。

### 7) 多環性クリプタンド

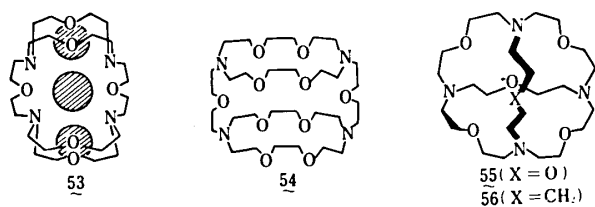
クリプタンド類をさらにトポロジー面から分類すると次の A~E が考えられる。



B 型の円筒型は 53 の様に 3 個のカチオンを錯体化する可能性を有しているが、実際に 3 個のカチオンを取込み得



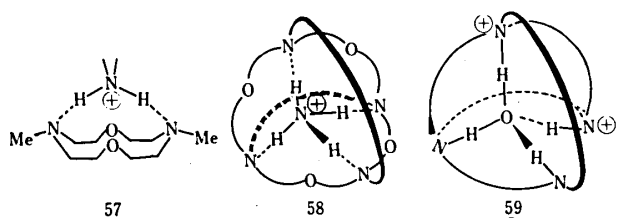
るかどうかは微妙で各内孔の大きさやカチオン間の反発も考慮されねばならない。しかしいつれにしても内孔(キャビティ: cavity)の大きさや構造を変えることによってB型クリプタンドの性質が変わることは当然である。52の上下のキャビティはカチオンを内包するには小さすぎ、 $\text{Ag}^+$ を2個抱えこんだ錯体でも、 $\text{Ag}^+$ は2個共中央のキャビティにおさまっている様である⁹⁾。しかし上下のキャビティ径の大きな54ではアルカリイオン、アルカリ土類



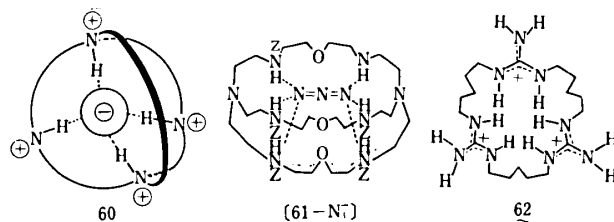
イオン、 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 等を上下のキャビティに2個取込んで2核錯体を生成する。54はまた当量づつの $\text{AgNO}_3$ と $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ を用いると $[\text{2Ag}^+\cdots\text{54}]$ 、 $[\text{2Pb}^{2+}\cdots\text{54}]$ と共に $[\text{Ag}^+, \text{Pb}^{2+}\cdots\text{54}]$ の異核錯体を生成する⁹⁾。

#### 8) 球状クリプタンド

球状クリプタンドとして55、56が知られている。これ等はさらに強いイオン包接体で錯生成定数も非常に大きく、イオン交換の活性化エネルギーも大きいため——16 Kcal/mol——交換速度も遅い⁹⁾。単環性クリプタンドは



二級アンモニウムイオンと57の様な会合体を作るが( $K = 60 \sim 70$ )¹⁰⁾。球状クリプタンド55はアンモニウムイオンを水素結合で取込み、58の様な錯体を形成する⁹⁾。また55はテトラアミンであるがその塩基性に異常性がみられる。即ち $\text{pK}_1$ と $\text{pK}_2$ がほとんど等しく、このことは55がプロトン2個迄は結合し易いことを示している。この55の2プロトン体が水分子を取込んだ状態 59 は丁度58に対応するもので、この形で安定されるために  $\text{pK}_1$ 、 $\text{pK}_2$  が大きく——塩基性が強く——また両者はほぼ等しくなっている。この様にして取込まれた水分子の交換は遅く、水分子ががっちり取り込まれている様子がうかがえる。さらに55や56のテトラアンモニウム型はハロゲンイオンと錯体を作り60型のアニオンを取込むことの出来るクリプタンドの出現となる¹¹⁾。ここでは球状ハロゲンイオンが $\text{N}^+-\text{H}\cdots\text{X}^-$ 型の結合で結ばれており、塩素イオンとの錯体は結晶解析され $[\text{Cl}^-\cdots(1,1,1,1)\text{H}_4]^3+\cdot\text{Cl}_3\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 型の構造が知られている¹²⁾。



この系では $\text{Cl}^-$ への親和力が大きく、 $\text{Br}^-$ や $\text{F}^-$ のそれより大きい。また $\text{I}^-$ や $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ などの錯生成は顕著でない。58、59等はいづれもテトラヘドラル構造でゲストイオンを迎え入れており、アンモニウム、ジヒドロニウム、球状アニオン等を包接するが、Lehn等¹³⁾はさらに61のクリプタンドを合成し、この塩基性は $\text{pK}_a: 9.3, 9.0, 7.9, 7.4, 6.3, 5.7$  ( $25^\circ\text{C}$ )で6個迄プロトン化され( $\text{Z}=\text{H}^+$ )、このものは $\text{N}_3^-$ と錯体を形成する( $\log K_{\text{ass}}: 4.6$  ( $25^\circ\text{C}$ ))。また $[\text{N}=\text{C}=\text{O}]^-$ や $[\text{F}-\text{H}-\text{F}]^-$ 等も取込むことが分った。61はさらにハロゲンイオン、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NO}_3$ 、 $\text{HCO}_2^-$ 等とも錯形成するが、不安定種 $\text{F}_2\text{H}^-$ 、 $\text{Cl}_2\text{H}^-$ 、 $\text{F}_3^-$ 等を安定化することが期待される。また塩基性の強いグアニジン基を組入れたクリプタンド62およびその類縁体も合成されており¹⁴⁾  $\text{PO}_3^{3-}$ との会合定数も測定されている ( $\text{pK}_{\text{ass}}: 2.4$  水中;  $4.3$  メタノール中)¹⁴⁾。これ等の会合定数はエチルグアニジウムの  $\text{pK}_{\text{ass}}: 0.95$  (水中)に比し、破格に大きな会合定数とは云えないまでもそのキャビティの大きさから考えて、三リン酸イオンやAMP、ADP、ATP等の取込みと選択性が期待される。

#### おわりに

最近のクラウンエーテル、クリプタンドの化学は益々こみ入って、不斉区別性、触媒能等に大いに注目されている。またSやPの入った類縁体も合成されており、その多様性はますます増大するであろう。今回の解説は一応これで終り、SやPの入ったマクロサイクル化合物についてはある程度データーが蓄積した時点で稿を改めたい。

#### 文 献

- 1) T-L. Ho, "Hard and Soft Acids and Bases Principle in Organic Chemistry" Academic Press, New York, (1977).
- 2) 木村栄一, "ホスト-ゲストの化学", 共立出版, 東京(1978), 第2章.
- 3) J-M. Lehn, *Acc Chem Res.*, **11**, 49(1978).
- 4) B. Dietrich, J-M. Lehn, and J.P. Sauvage, *Tetrahedron*, **29**, 1629(1973).
- 5) F.J. Tehan, B.L. Baruett, and J.L. Dye, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 7203(1974).
- 6) D. Clement, F. Damm, and J-M. Lehn, *Heterocycles*, **5**, 477(1976).
- 7) R. Weiss and R. Weiss, *J.C.S. Chem. Commun.* 678(1973).
- 8) J-M. Lehn and J. Simon, *Helv Chim Acta*, **60**, 141(1977).
- 9) E. Graf and J-M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 5022(1975).
- 10) J.C. Metcalfe and J.F. Stoddart, *ibid.*, **99**, 8317(1977).
- 11) E. Graf and J-M. Lehn, *ibid.*, **98**, 6403(1976).
- 12) B. Metz, J.M. Razalky, and R. Weiss, *J.C.S. Chem Commun.*, 533(1976).
- 13) J-M. Lehn, E. Sanveaux, A.K. Willard, *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 4914(1978).
- 14) B. Dietrich, T.M. Fyles, J-M. Lehn, L.G. Pease, and D.L. Fyles, *J.C.S. Chem. Commun.*, 934(1978).

# EASTMAN Organic Chemicals

**EOC**

“4500種類の試薬を国内在庫”



試薬は  
鹿印

## 関東化学株式会社

本社／東京都中央区日本橋本町3-7

電話 03-279-1751 (大代表)

㊤表示許可工場／埼玉県草加市稲荷町2048

電話 0489-31-1331 (代表)

### ■ 分析研究用試薬

超高純度試薬(UGR)

有害金属測定用試薬(PMA)

高速液体クロマトグラフ用溶媒  
(HLC-SOL)

原子吸光分析用試薬各種

吸収スペクトル測定用溶媒(UVIR)

イーストマンTLC用シート

カルボン酸自動分析用試薬

### ■ 合成研究用試薬

高純度有機薬品

イーストマンコダック社有機試薬

### ■ 臨床検査用試薬

臨床検査用キットおよび単純試薬

自動分析機器用調製試薬

### ■ ファインケミカルス

中間体各種

## 生体空間と位置情報

山形大学教授 理学博士 中 沢 信 午

古代ギリシャの哲学者 Empedocles (495-435B.C.) は動物の起原をこう考えたという¹⁾

“最初はくびのない頭、肩のない腕、眼球孔のない眼球など、体の各部分が単独に生じた。その後、愛(philía)が憎み(neikos)に打ち勝って、これらの各部品が、互いに偶然に結合した。その結果、人間の頭をもった動物、動物の頭をもった人間、またアリストファネスの祭の客人のような、二つの頭に二つの胸をもった人間など、すべての偶然な、奇妙な生物が出現した。だが、これら不自然なものは直ちに消滅した。なぜなら、かれらは繁殖できなかったからである。”

この発生説は、適者だけが生残るという点で、のちの Darwin (1859) の進化論のきざしともみられる。がしかし、もしもこの説のような考えが正しいとすると、生体内の各器官は、ただ偶然にその位置に形成されたにすぎない。しかし、実際はそうでなく、個体発生のプロセスでは、それぞれのプランにしたがって、各器官が、その固有の位置に生ずる。したがって Empedocles の説は正しくないと思う。

では、ある器官が、ある位置に形成する、その位置の情報は何か。これが本文の主題である。「A 器官を A の位置に形成するという時に、ここが A の位置だということを、何が、いかにして知らせるか」である。

### 形 成 の 場

磁場、電場などの概念に似せて、形成の場(morphogenetic field)の概念を打ち出したのは 1921 年の Alexander Gurwitsch²⁾ であった。つまり、頭には頭の、眼には眼の場があり、場にしがたがって、その位置の細胞は、その器官に形成する、という。

この考え方は、イモリの肢の移植実験において、みごとに実証されたようにも見える。たとえば、若いイモリの前肢、後肢、尾などを基部から切断すると、切断面には細胞が増殖して、まずブラステーマとよぶ未分化の組織ができる。このまま放置すると、それぞれのブラステーマは、それぞれ失われた前肢、後肢、尾などに再生していく。

ところが、もしも前肢に生じたブラステーマを切りとって、これを後肢の位置に移植すると、それは前肢ではなく後肢になる。この逆も可能である。また尾のブラステーマを前肢または後肢の位置に移植すると、これまた尾にはならず、それぞれ前肢または後肢になってしまう。各ブラステーマを構成する細胞は、おなじ体の細胞だから、

遺伝子型はおなじはずである。とすれば、要するに細胞は、その置かれた“場”に応じて、その形成の運命がきまることとなる。

これ以外にも、場というものが確かにあると見られる例は、いろいろの動植物について知られ、今日では、形成の場は一般に受け入れられたといつてよからう。

だがしかし、では場の本体は何か？ と問われた場合、現代の知識では何とも答えられない。場の正体は単に微弱な電位分布だともみられる。しかし、では何がその独自の電位分布を決めているか？ そのものこそ場ではないのか、ともいわれる。これと対立的に、場は生体から独立したもので、生体が場を作るのではなく、場が生体をつくるのだ、という一種の超越的な場を仮想する人々もある。一見して神秘論とみられ易いが、それは皮相的な観察で、事実これを暗示する例が、たとえば緑藻の一種 *Micrasterias* などで見られる³⁾

生体が占める空間を生体空間(biospace)とよぶことにする。生体空間の容積は、その生体の体積とおなじく、またその形は生体と合同である。生体が移動すれば、その生体空間もともに移動する。これだけならば、さしたる問題はない。ところが、場の概念からすると、生体空間は、実は現実の生体のまわりに、はみ出している。たとえば肢が再生するときには、未来の肢の形をもった生体空間としての場がすでに存在し、その形にしたがって、その大きさまで再生がおこる、というのが場の概念である。だから場は超越的な概念だといっているのである。

Gurwitsch²⁾ の論文から、原文の一部を引用してみよう。

— ist ein Feld, dessen Grenzen mit den jeweiligen des Embryo im allgemeinen nicht zusammenfallen, vielmehr dieselben überschreiten. (S.392)

### セントラル・ドグマからの理解

遺伝子(DNA)はおなじDNAを複製し、またそのDNAの活動により、それに対応するリボ核酸(RNA)を生じ、さらにそれに対応するタンパク質ができるという DNA→DNA→RNA→タンパク質の道順がセントラル・ドグマ説である。したがって、子は親とおなじDNAをもつから、子には親とおなじタンパク質ができる。だから、子は親に似る、という。また一方では、体の各部分において、活動するDNAは同一ではない。頭では頭の、眼では眼のDNAが活動するから、おのおの位置に応じた独自のタンパク質が生ずる。だから位置に特異的な器官形成がおこる、という。

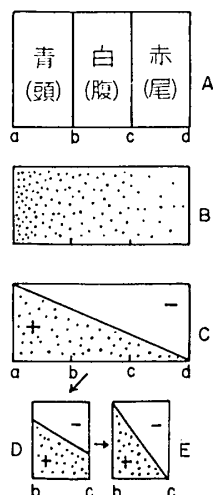


図1 フランスの国旗と生体空間の位置情報モデル (本文参照)

それでは、親とおなじタンパク質を生ずれば、どうして親とおなじ形成をするのだろうか。この点は全くわからない。また、生体内のある位置に、あるタンパク質が生ずれば、どうしてそれが、特異的な器官をつくる原因となるのだろうか。これもわからない。

一応、誘導という現象があるにはある。たとえば、ある種のタンパク質が存在すれば、それによっておこる一連の反応、その生成物などが、その細胞で、どのDNAを活動させるかという、誘いをする。その結果、その位置の細胞では特異的なタンパク質が生成する、という。これが神経系の誘導、眼のレンズの誘導といった著名な現象にほかならない。

では「ここがその位置だ」ということは、いかにしてわかるのだろうか。これは困難な問題である。

セントラル・ドグマは、生体内における、いわばスカラー量であり、ある物質が生ずるメカニズムを説明するにすぎない。その物質が、生体内のどの位置に生ずるかという、いわばベクトル量については、セントラル・ドグマは説明し得ない。

## 極 性

単細胞生物でも、多細胞生物でも、多くの場合、生体は自身の内面的な方向性をもっている。その方向性が、外圍条件で容易に変わる生物もあり、またきわめて安定で、実験されたかぎり不変に保たれるものもある。

たとえば古典的な例だが、ヤナギの枝を10 cmほどに切りとり、葉を除き、湿った部屋に保持すると、枝の本来の基端から不定根を、本来の頂端付近から新芽を生ずる。棒磁石にも似たこの極性は、光、重力、給水などの方向に対しては、極めて安定で、これを变化させた実験はまだない。私も実験してその真実を確かめた。

してみると、芽の物質は頂端に、根の物質は基端にお

いて作られるか、または全体一様に作られた後に、それぞれ基端または頂端へ輸送されるとみられるであろう。何がこの輸送を行うか。それは、あるいは「場」であり、また「極性」である。

単細胞について例を見よう。海産のカサノリは長さ約5 cmにもおよぶ1個の巨大な細長い細胞で、はじめに核はただ1個、基端にある。この核のはたらきの一つは巨大な細胞の頂きに、カサを開いた形のキャップを形成するタンパク質に対応するRNAを生ずることにある。つまり、核のDNAが活動してRNAを生じ、そのRNAはキャップ用のタンパク質をつくる。面白いのは、このRNAは細胞の頂きへ向けて移動し、そこで集まり、結果として頂部から基部へかけてRNAの濃度勾配ができる。一種の細胞内能動輸送である。このとき、実は青色系の光が必要である。が、光はただ均一にあたればよい。一方から照射する必要はない。したがって、このRNAの一方通行は明暗勾配によるのではなく、まったく細胞自身の極性によるものである。

例はたくさんあるが、要するに、生体は自身の極性をもつ。その極性にしたがって、諸物質は体内で各位置へ分配される。その分配の動力因は、あるいは電気的であり、また原形質流動、拡散、吸着その他でありうる。だがそれだけでは解決しない。問題は、極性そのものの正体は何か、である。

## 位 置 情 報

「場」「極性」などが正体不明の対象として、一部の生物学者からは敬遠されつつあるとき、近年になって、英国のWolpert⁴⁾が新しい概念として位置情報 (positional information) を持ち出した。その後も一連の論文が書かれ、日本では井上・竹内⁵⁾ 柴谷⁶⁾らによって紹介された。

位置情報とは「位置を教える情報」である。その正体は何か、その根源は何か、それは未知である。けれども「場」「極性」などに代わる新しい概念として、これから展開するものと私は思う。位置情報について、最も特色あるものは、新しい用語として「解釈」 (interpretation) というのが導入されたことであろう。

そもそもDNAからDNAが生ずるのは、おなじものの複製 (replication) であり、DNAからRNAが生ずるのは、G, A, T, Cの4塩基にそれぞれ相補的なC, U, A, Gが新しい分子を形成する転写 (transcription)、そしてRNAからタンパク質が生ずる段階は、塩基のトリプレットを暗号として、これを解読し、RNAをタンパク質へ翻訳 (translation) するのであった。これらは全くメカニカルで、まれに誤写、誤訳があるにしても、それはプロバビリティの問題であり、意識的に誤訳や誤写はできない。

ところが、位置情報における「解釈」はやや異なる。おなじ細胞でも、位置に対応してその反応が異なる、つまり細胞は位置を解釈する。のみならず、おなじ位置でも、異なる細胞がくると、反応のし方が異なる。つまり

おなじ位置に対する解釈が異なる。

例をあげよう。キイロショウジョウバエの雄の前肢の末節の部分に一種の剛毛列がある。雌にはこれがない。雄の他の部分の細胞をこの位置へもって来ると、やはりここに剛毛列が生ずる。しかし雌の細胞をここへ移植したのでは、おなじ位置でありながら、剛毛列はできない。雄では、その位置へ来たら剛毛列を作るという解釈がなされ、雌ではこれがなされないのである。

さきにのべた、イモリの再生についても、同様の理解がなされるであろう。尾のプラステマを前肢の位置へ移すと、この位置では尾でなく前肢をつくるべし、という解釈が行われたとみられるのである。

セントラル・ドグマの大通りでは、 $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{タンパク質} \rightarrow \text{X} \rightarrow \text{形成}$ 。という順序で事が進行する。タンパク質から形成を直接に理解できないから、中間に未知のXをおいたわけだ。このXの正体を解明すれば、全コースがわかったことになる。Xは位置情報の「解釈」ではないだろうか。

解釈には個人差がある。つまり細胞（遺伝子型）によって差がある。生体内の特異的な位置を、どう解釈するかは、細胞の独自性によるわけだ。したがって、位置情報の解釈はメカニカルではなく、オプションである。ここで生物学は一段とむずかしくなるのである。

### フランスの国旗の問題

フランスの国旗は青・白・赤の3色が平行にならんだ2次元紋様である。しかしこの紋様は横軸上の部域特異性によって、1次元になおして見られる。左端をa、右端をdとし、adを中間の2点bとcで3等分し、abの区域が青、bcが白、cdが赤とする。この場合、どの区域がどの色だという位置の情報は何だろうか。

これは生物体にもあてはまる。簡単に、頭部、腹部、尾部と分けたとすれば、abが頭部、bcが腹部、cdが尾部となる。

位置情報としてありうる一つのタイプは、ある物質の濃度勾配である。「濃度レベル最高のところが頭部になる」という理解が過去にしばしば採用された。これでは不十分をまぬがれない。たとえば、いちばん金のある人が代表して酒代を払うといっても、支払うだけ持っていないときは、どうにもならない。同様に、濃度の高いところが頭部になるといっても、その濃度が物量としてある程度に達していなければ頭部形成はできない。

したがって、むしろ頭部形成の物量が、あるレベルに達しているところが頭部になるとすべきであろう。だがしかし、それでは再生はどうだろうか。たとえばabとcdを切除して、bc部分だけをとり出すと、それでもbに頭部、cに尾部が再生する。例として淡水動物プラナリアがこれに相当する。

これを理解するには、bでは濃度レベルが上がり、cでは下がって、bcの勾配がより急傾斜になるとすればよい。そして、このようにbで濃度が上がるのは、単なる

拡散ではあり得ず、それ相当の動力因がなければならぬ。それは何か。ここで、この問題はあらたな段階を迎える。

さらにもう一つの問題がある。もしも濃度が一樣に高まって、全体が高レベル化すれば、全体に頭部ができるであろうか。そういうことが実際にあるか否か、例を知らないが、生物体では通常そんな現象がおこらない。これはやはり、特定の物質について、つねに濃度勾配がある方向に保たれているような、仕組みがあるからではないだろうか。

生体空間内に、たがいに反対の性質をもつプラス(+)とマイナス(-)の2物質があり、反対向きに濃度勾配をなしているとすれば、より良く説明できる。図1Cで点を打った部分が(+)物質の勾配、白い部分が(-)物質の勾配とし、ちょうど対角線で両者を区分すると、両者の比 $[-]/[+]$ はa部で $\frac{1}{4}$ 、bで $\frac{1}{2}$ 、cで $\frac{3}{4}$ 、dで $\frac{1}{2}$ となる。これら比率に対応して、各部域にそれぞれの形成が定まりうる。もし図1Dのようにbcを切り出すと、切り出した時は $b = \frac{1}{2}$ 、 $c = \frac{3}{4}$ だが、Eのように物質が移動すると $b = \frac{1}{4}$ 、 $c = \frac{1}{2}$ となり、各部の特性は図1Cとおなじに復元する。

以上は最も単純なモデルを設定して、位置情報を考察したわけだが、実際には、こんな単純なことではあるまい。が、まず事をはじめするには、単純なケースから出発し、何らかの合理的法則を発見したならば、次にはこれを複雑な系に適用することを試みながら、修正に修正を加え、完全に近づくのも可能であろう。

というわけで、生体空間、位置情報、解釈など、あまり一般化していない用語を持ち出して、今後への問題を提起してみたのである。

### 文 献

- 1) Osborn, H.F.: From the Greeks to Darwin (1894) (弓削達勝訳「自然科学思想史」日東書院, 1932)
- 2) Gurwitsch, A.: Arch. Entw.-mech. **51**, 384(1921).
- 3) Waddington, C.H.: in Major Problems in Developmental Biology ed. by M.Locke, Academic Press, p.105(1966).
- 4) Wolpert, L.: J.Theor. Biol. **25**, 1(1969).
- 4) 井上 敬・竹内郁夫: 生物物理, **18**, 22(1978).
- 6) 柴谷篤弘: 発生現象の細胞社会学, 講談社(1979).



## 薬学の先駆者・緒方 章(22)

根本 曾代子

## 生物学的薬学の創始者

緒方 章博士(1887~1978)は、今から約60余年前、東京帝国大学医学部薬学科の助手時代、薬理学が薬学の不可欠の要素であるにも拘らず、医学の部門に属していたため、未開発の分野であったのを、敢然と挑み、新境地の端緒を把握されたのである。

その業績が認められ、新設の臓器薬品化学講座の初代担任教授に抜擢され、現在薬学の重要な地歩を占める生理化学・薬理学の基礎を確立された。

高邁な教授の薫陶を受けた多くの逸材によって、さらに広範にわたる領域が展開され、薬学および医薬品製造の進歩発展に貢献している。

## 医学一門の家系

緒方 章博士は明治20年(1887)10月26日、大阪東区北浜3丁目の自宅で、医学者緒方惟準氏の四男として生誕、祖父緒方洪庵の本名の章と命名された。母は吉重刀自。

その生家は、緒方洪庵が主宰した適塾の跡で、今は大阪府史蹟として保存されている。洪庵を祖とする緒方家は、洪庵が七男六女の子福者で、次男惟準氏は四男二女を儲けている。その一門から著名な医学者が輩出して、優秀家系として引例されるが、その中で章博士は薬学者として異彩を放っている。

緒方洪庵(1810~1863)は、江戸末期の洋学教育の先駆者として、偉大な足跡を印した。洪庵は備中(岡山県)の出身で、青年時代江戸に出て、蘭医・宇田川榛斎、坪井信道の門に入り修業の後、長崎でオランダ医師ニーマンに師事した。天保9年(1838)大阪北浜に適塾を開く。文久2年(1862)幕府奥医師(将軍侍医)に招聘されるまでの25年間、洪庵の学殖を慕って全国から適塾に参集した入門者は3千人と伝えられている。

門人帳には後年名を成した記名が見られるが、特に維新前後に傑出した橋本左内、大村益次郎、大鳥圭介、長與専斎、福沢諭吉らは、師の名声を高からしめている。

幕府に出仕した洪庵は、西洋医学所(東京大学医学部の前身)頭取の兼職にも努めたが、不慣れな官職の煩勞のためか、着任後約10カ月で、翌文久3年(1863)6月10日、急病で53歳の生涯を終わる。

洪庵の長男は早世、嗣子となった次男惟準氏は、少年時代長崎でオランダ医師ボードインに学ぶ。父洪庵に死別した21歳の時に、江戸の西洋医学所教授となる。慶応2年(1866)25歳の惟準氏は、帰国するボードインに随

行して、オランダのユトレヒト大学で医学を修業する。幕府派遣の最初の医学留学生である。2年後の明治元年(1868)幕府瓦解のため呼び戻される。

惟準氏は大阪の軍事病院長兼明治天皇の中典医を命ぜられる。皇室では初めて採用された西洋医師で、天皇に供奉して東京に移る。明治4年、中典医を辞し、初代陸軍軍医監兼薬剤監から大阪鎮台(後の師団)病院長、東京陸軍病院長、陸軍軍医学校長を歴任する。末子の章博士が生まれた明治20年、父は軍職を退き、大阪に緒方病院を開設した。

## 少年の日の夢

恵まれた環境で健やかに成長した章少年は、小学校高等科2年を修了して、大阪府立第五中学校に通学を始めた。ある日ボート遊びの最中に、他のボートのオールが背中にあたり、それがもとで1年間休学を余儀なくされる大病を患った。この奇禍が博士の一生の健康に影響を与える。

学課の中では化学と生物が得意で、家庭環境から独りで医学を志望したが、健康を案じた兄から将来緒方病院薬局長を勧められて、薬学に方向を変えることになった。

5年生の時、成績を競った黒柳という秀才が胸を病んで絶命した。国文担任の田中先生は作文の時間に「黒柳を哭す」という題で綴らせた。緒方生徒の作文は先生の印象に残り、二重丸に優の評点が付けられた。後年、田中先生は「わが80年」と題する著書の一節に、かつての教え子で、既に薬学博士の学位を得た往年の緒方君の作文を引用して、「黒柳君がもし10年後に発病したならば、我輩が薬学博士となり、肺結核の妙薬を発見して、彼の命を救ったものを」と、少年の純粋な夢に託して、友の死を悼んだ一文は、忘れ得ぬ思い出として、旧師の80年の回想録に収載されたのであろう。

## 肺結核の妙薬発見を目指して

明治39年(1906)3月中学を卒業。肺結核の妙薬発見目的の薬学に進学する第一段階として、この年9月、京都の旧制第三高等学校の2部乙類に入学して学習に励む。学友との交遊や、思想・哲学等について談論風発し、自己を内省する人間形成に影を落す高校生活の終りに、父の死に遭遇し、精神的打撃を受ける。

明治42年(1909)9月、三高から東京帝国大学医科大学薬学科の志願者は、緒方学生を含めて6名で、入学者21名中断然優勢であった。薬学科志願者は前年まで定員15

名に達せず、入学試験は行わなかった。ところがこの年は定員を超過したが、特例として無試験入学が認められた。

薬学科の4講座担任は、生薬学の下山順一郎教授、衛生・裁判化学の丹波敬三教授、薬化学の長井長義教授、薬品製造学の丹羽藤吉郎教授が、授業を分担していたが、初代教授たちは円熟の境地から老境に入っていた。

明治45年(1912)2月12日、下山教授が急逝された。59歳であった。6月、3カ年の薬学科課程の総決算である卒業試験の終了後、大阪に帰郷して信子夫と結婚。新婚旅行をかねて上京し、7月10日の卒業式に参列する。

明治天皇は恒例の東京帝国大学卒業式に行幸になられたが、間もなく7月30日崩御せられて、大正と改正された。

### 薬学の新方向を開く

緒方学士は大学院に進み、長井教授指導の下に1年間、薬化学研究に没頭した後、月給29円の薬化学教室助手を拝命する。当時の講座は教授1名助手1名に過ぎず、70歳に近い長井教授は自室での研究に籠もりがちで、新任の緒方助手は学生の実習指導の応接に追われた。助手生活も軌道に乗り、心身共に多少の余裕が出来ると、薄給を補うために、時間を割いて他の学校講師や会社の技術指導などに出張する傍ら、自身の研究に着手する。

長井教授から与えられたベンチルメチルケトンとメチルアミンの縮合体の合成に成功した。その時副生したベンチルアミン塩酸塩の結晶の微量をなめると、舌端に麻痺感覚が走った。

早速文献を調べたが、そのような反応を示す事例は見当たらなかった。直感的に局所麻酔薬発見の糸口が掴めるかもしれぬ興奮に駆られた。しかし、その解明には、医学の分野に属する薬理学の知識と動物実験の技術が必要であった。

そこで長井教授の了解を得て、毎日午前中、医科大学薬理学担任の林春雄教授の講義を聴き、助手から動物実験の方法の指導を受けて、目指す化合物の麻酔作用の比較実験に集中する。

午後は薬化学教室に戻り、助手の任務に努めながら、論文の仕上げに力を注ぐ。当時の薬学の論文の書式は、美濃紙に毛筆で記述する慣例になっていた。「局所麻酔性を有するアミノ化合物の構造研究補遺」と題する論文を、大正7年(1918)9月提出して、目的を達成した。

翌大正8年4月、帝国大学令改正により、医科大学は医学部と改組する。緒方助手の論文は、医学部教授会での審査の結果、薬学に新しい研究方向を開いたものとして合格し、その年12月、晴れの薬学博士の学位が授与された。31歳であった。

### 再度の留学目的

大正9年(1920)12月、薬学科4講座所属の助教授が任命され、薬化学教室の緒方助手は助教授に昇任する。

大正10年、長井教授は停年制に先立ち、76歳で退職、近藤平三郎教授が後任となる。

緒方助教授は将来に重要な条件となる先進学術研修の念やみ難く、官命による海外留学の順番を待ち切れず、近藤教授の了承を得て、資金を工面し、1年間の予定で大正12年4月、欧米視察の途に上った。その頃、横浜・マルセーユ間45日の船賃は、3食付1等1,000円で、1年間の留学費は約1万円といわれる。

最初の目的地ドイツは、第1次世界大戦で惨敗した窮状は甚だしく、暴落するマルク相場の対処に銀行へ日参せねばならず、研究に没頭できる状態ではなかった。ベルリン到着後3カ月余り経ち、ようやく環境に馴れてきたところへ、関東大震災の異変が伝わり、留学生らは浮き足立った。緒方助教授も家族は無事との電文では不安を抑え切れず、予定を切り上げて、半年余りの外遊から戻った。

大正13年4月、薬学科拡充を目的とする2講座増設計画が具体化した。薬学に必須の薬理学系統の学課として、ホルモン化学に関連する臓器薬品化学講座と薬品分析化学講座を採決、3年後の設置を期して、担任両候補はそれぞれ2年間、海外留学に派遣された。

ドイツ留学を命じられた緒方助教授は、大正14年2月、薬理学専攻の使命をおびて、再度の訪独に出発する。ベルリン大学の薬理学教室に入り、ヨアヒムグラー教授の指導を受け、薬理学研究に励んだ。教授は化学に興味を持っていたが、その知識は化学を専攻した緒方博士には及ばなかった。お互いに知識交換の形で、緒方博士の化学が教授の研究に役に立ち、教授は実験薬理学の解説に力を入れる便宜が得られた。

### 戦中戦後の教授生活

昭和2年2月、充実した留学を終えて帰国した時は、既に経済情勢が変り、予定額では2講座増設は不可能となり、やむなく緊急の1講座設置に変更する措置がとられた。昭和4年12月、臓器薬品化学講座設置の件が公布され、昭和5年3月、緒方助教授が初代担任教授に任命された。

しかし教授1名、助手1名の構成のうえに、切りつめた予算で、実験装置も現在とは比較にならぬ幼稚な設備で、新しい領域を開発する難局打開の現実に直面せねばならなかった。

教室員の協力で、男性ホルモンや甲状腺ホルモンの研究に着手したが、肝心の研究材料の入手困難にぶつかったところへ、思わぬ援助者が現れた。帝国社臓器薬研究所社長から、技術指導の依頼を受けた縁故で、研究材料が供給された。仕入れに行った教室員が、屠殺場の凄絶な情景に肝を潰し、暫くは食事がのどを通らぬ経験も、研究の一過程であった。

ところで緒方章教授の令兄緒方知三郎教授は、医学部病理学教室を主宰し、新しい唾液腺内分泌研究を始めていた。昭和14年秋頃、臓器薬品化学教室の応援を求め

られたので、興味をもっていた章教授は、まず研究材料の唾液集めに自ら範を示し、教室員全員がだらだらとよだれを流す珍風景が演じられた。

昭和16年赴任した伊藤四十二助教授(後任教授)が研究に協力して、昭和19年には、先人未発の唾液腺ホルモンの化学的組成を突きとめ、発表して注目をあつめた。

この年7月、緒方教授は勲二等瑞宝章を授けられた。その頃は教室員は相次いで微発され、防空壕の設営や疎開作業の雑務に追われ、強健でない教授は疲労困憊して終戦を迎えた。

G H Qの指令による学制改革が始まった昭和22年、日本薬学会会頭、日本薬局方調査会会長となる。そして昭和23年3月、停年退職の時を迎え、東京大学名誉教授を贈られる。

想えば18年間の教授生活の大半は、15年戦争と戦後の混乱の渦中にまき込まれて、研究を中断された時間や労力の消耗は測り知れないものがある。国の運命とともにした無念は、教授の多士済々の門下たちによって遺憾なく晴らされている。

#### 〈編集後記〉

あけましておめでとうございます。

1980年を迎え、21世紀へのデイケードにひと区切り近づいて、希望が一段と湧くところですが、エネルギー危機やら、紛争の脅威やらで、手放して喜べない新年であります。しかし、我が国民の英知は21世紀への難局の

#### 高潔な指導者として

退官後は帝国臓器(株)顧問として、研究指導に何よりの意義を見いだされた。多方面の公務の委嘱中主なものは、薬事委員会委員長、日本内分泌学会会長、中央薬事審議会会長、日本薬剤師協会会長、結核予防審議会委員、日本公定書協会会長、その他を歴任された。

昭和37年には金婚式の賀。昭和39年春の生存者叙勲に銀杯一組を下賜される。昭和43年、富田専治学術振興会栄誉賞受賞と慶事が重なる。

昭和53年8月22日、清廉な学徳を遺して、健康管理も見事に、91歳の天寿を全うされ、従三位に叙せられる。

#### お詫び

前号1979年第4号(通巻94号)、根本曾代子先生御執筆「薬学の先駆者・中尾萬三」中、19ページ右下から7段め、6段目に誤りがございましたので訂正致します。

楽隠居 → 楽舛居

「楽舛居」とは舛と楽を合せると「薬」になるとの発想から名づけられたということです。編集の責任で全く意味の違う字句になってしまいましたことを、謹んでお詫び申し上げます。

打開を必らずやなし得るものと確信し、努力する決心を新たにしております。本号では武井先生の「工業分析化学随説」は都合によりお休みですが、諸先生方の数々の興味あるお話で誌上を飾ることができました。あいかわらぬご厚情を深く感謝致し、また同時に諸先生方ならびにご愛読者の皆様の今年のご活躍を心からお祈り申し上げます。

〈山田 記〉

## 関 東 化 学 株 式 会 社

本 社	〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目7番地	
	電話 03(279)1751(代)、1755(代)、1761(代)、1767(代) TELEX. 2223446 (CICAJ)	
草 加 工 場	日本工業規格表示許可工場 無機試薬 第6835号・有機試薬 第6836号	
	〒340 埼玉県草加市稲荷町2048番地 TEL 0489 (31) 1 3 3 1	
伊勢原工場	〒259-11 神奈川県伊勢原市鈴川21番地 TEL 0463 (94) 8 5 3 1	
柵原工場	〒708-15 岡山県久米郡柵原町藤原30番地 TEL 08686 (2) 0 7 1 0	
大阪支店	〒541 大阪市東区瓦町3丁目1番地 TEL 06 (231) 16 7 2 ~ 4	
札幌出張所	〒061-01 札幌市豊平区里塚314-3番地 TEL 011 (882) 15 1 1 ~ 4	
仙台出張所	〒983 宮城県仙台市日の出町1丁目7番9号 TEL 0222 (94) 0 1 7 5 ~ 6	
埼玉出張所	〒364 埼玉県北本市中丸3丁目82番地 TEL 0485 (92) 2 3 6 1	
国分寺出張所	〒185 東京都国分寺市東元町3丁目4番19号 TEL 0423 (24) 5 3 1 1	
京葉出張所	〒280 千葉県千葉市今井町2丁目14番15号 TEL 0472 (61) 13 0 3 ~ 4	
京浜出張所	〒223 神奈川県横浜市港北区新羽町2055番地 TEL 045 (542) 0 8 0 1 ~ 3	
湘南出張所	〒254 神奈川県平塚市大神2153番地 TEL 0463 (55) 2 0 5 1 ~ 3	
静岡出張所	〒422 静岡県静岡市中村町393番地 TEL 0542 (81) 2 0 1 0	
中京出張所	〒491 愛知県一宮市大和町妙興寺字中之町4番地 TEL 0586 (24) 1 7 2 5	
九州出張所	〒804 北九州市戸畑区天神2丁目2番14号 TEL 093 (881) 3 9 6 1 ~ 2	
宇都宮営業所	〒321-01 栃木県宇都宮市雀の宮4丁目737番58号 TEL 0286 (53) 3 7 2 4	
広島営業所	〒730 広島県広島市大州1丁目7番2号 TEL 0822 (85) 6 2 2 1	
筑波営業所	〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町大字通横場2336 TEL 02975 (5) 1 8 7 0	
草加分室	〒340 埼玉県草加市稲荷町2048番地 TEL 0489 (31) 3 2 9 2	

昭和五十五年一月一日発行

発行者 関東化学株式会社

ケミカルタイムス編集委員会  
編集責任者 山田 博